



Université du Québec
à Rimouski

PHYLOGÉOGRAPHIE DE L'ESPÈCE FOURRAGÈRE *NEOMYSIS AMERICANA* (MYSIDA)

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en océanographie

en vue de l'obtention du grade de maître ès Sciences

PAR

© GRÉGOIRE CORTIAL

Août 2018

Composition du jury :

France Dufresne, présidente du jury, Université du Québec à Rimouski

Gesche Winkler, directrice de recherche, Université du Québec à Rimouski

Geneviève Parent, examinateur externe, Institut Maurice-Lamontagne, MPO,

Dépôt initial le 27 Juin 2018

Dépôt final le 20 Août 2018

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

Choisissez un travail que vous aimez et vous n'aurez pas à travailler un seul jour de votre vie.

- Confucius (Kong Qui)

REMERCIEMENTS

Tout d'abord je voudrai remercier Mme Dufresne et Mme Parent de l'intérêt que vous portez à ce projet en ayant accepté d'évaluer ce mémoire.

Je tenais à remercier Astrid Tempestini pour m'avoir aidé sur l'utilisation de certains logiciels de génétiques et Dominique Lavallée pour m'avoir initié à certaines méthodes d'extraction en laboratoire. Merci également à Karine Lemarchand et Kim Doiron pour m'avoir permis d'utiliser certains appareils de leur laboratoire sans quoi il m'aurait été difficile de réaliser ce projet dans les temps impartis.

Je remercie l'ensemble des personnes qui ont participé à l'échantillonnage durant l'été 2015 sans quoi ce projet n'aurait pas vu le jour. Un énorme merci à Bruno Cayouette et Sylvain Blondeau pour leur capitaneat irréprochable et leur persévérance durant nos sorties en mer (pas toujours propices à la réalisation d'une campagne d'échantillonnage). Je décerne également le titre de pêcheurs invétérés de *Neomysis americana* à Andy, Angy, Antoine, Catherine, Éloïsa, Sarah, Thomas et Valentin. Je remercie finalement Rachel et Ryan pour nous avoir fourni les échantillons des baies de Penobscot et Chesapeake (É-U), respectivement.

Je tiens également à remercier l'ensemble des personnes qui ont fait et font toujours partie du laboratoire pour avoir retransmis l'ambiance familiale qui y règne depuis mon arrivée. Je les remercie également car ce nombre doit être plus ou moins proportionnel à la quantité de gâteaux (pour ne pas dire : « de sucre ») avalée durant les innombrables « Sugar fix ».

Un grand merci à l'ensemble du corps administratif pour leur efficacité sans qui nous (étudiants) n'existerions pas.

Étant un fin gourmet (ou « gros » diront certains) je garde toujours le meilleur pour la fin. Et oui comment ne pas remercier chaleureusement ma directrice Gesche Winkler qui aura su me guider tout au long de ce projet débuté il y'a maintenant deux ans et demi. Je tiens à te remercier encore une fois à titre personnel pour la patience dont tu as fait preuve mais également et surtout pour la disponibilité que tu m'as accordé. Tu m'as permis d'avancer tant sur le plan professionnel que personnel et je t'en remercie. J'estime également que la bienveillance dont tu fais preuve à l'égard des étudiants devrait servir d'exemple au sein de cette petite communauté de chercheurs que constitue l'ISMER.

Finalement, comment oublier ma petite famille qui m'a soutenue tout au long de ce projet malgré la distance (et le décalage horaire...). Et comment ne pas évoquer la présence d'Angélique à mes côtés pour qui la patience est une vertu.

RÉSUMÉ

Les espèces exhibant de larges aires de répartition montrent communément des caractéristiques eurythermes et euryhalines. Cependant, de plus en plus d'éléments révèlent l'existence de différenciations génétiques au sein d'espèces aux capacités de dispersion limitées. Les barrières empêchant la dispersion au sein des milieux estuariens peuvent également promouvoir la divergence entre populations d'une même espèce. Enfin, il a été reconnu que les événements climatiques du Pléistocène ont significativement impacté la structure génétique des espèces côtières. L'ensemble de ces forces historiques et contemporaines a façonné la distribution actuelle des organismes marins nord-Américains. Cette étude vise à décrire la phylogéographie, la diversité génétique et la structure génétique des populations de *Neomysis americana* (Crustacés, Mysida), une espèce de mysidacé essentielle dans les réseaux trophiques estuariens et retrouvée le long de la côte nord-ouest Atlantique. Des populations ont été échantillonnées dans l'aire de répartition de l'espèce, et plus particulièrement dans le Saint-Laurent. Le séquençage de la sous-unité I située sur le gène cytochrome oxydase de l'ADN mitochondrial (COI) a permis de révéler trois lignées divergentes ($>3\%$, $n = 420$ individus, 28 stations). Une diversité moléculaire élevée a été trouvée à l'intérieur des stations (moyenne $h_d = 0,91$ et $\pi = 0,094$). L'existence d'une importante structuration génétique géographique (AMOVA) apparaît à l'échelle régionale entre les stations provenant de différentes régions, la baie de Chesapeake (lignée C, L_C), la baie Penobscot (lignée A, L_A), le système du Saint-Laurent (lignées A + B, $L_A + L_B$). De plus, cette structure génétique met en évidence la présence de deux ruptures géographiques le long de la côte nord-ouest Atlantique (i) entre la baie Penobscot et la baie de Chesapeake et (ii) entre la baie Penobscot et le Saint-Laurent. Ces résultats soulignent que l'existence d'éventuelles discontinuités océanographiques, la fragmentation de l'habitat et le potentiel de dispersion limité de *N. americana* pourrait causer une restriction de flux de génique entre les populations de cette espèce. Les inférences relatives au temps de divergence des trois lignées supportent des événements vicariants au cours du Pléistocène inférieur et moyen (2,0-1,3 Ma) au sein de différents refuges glaciaires situés au nord (Grand Banks) et au sud (Georges Bank). Les lignées A et B ont recolonisé le système du Saint-Laurent après le dernier maximum glaciaire, faisant du Saint-Laurent une zone de contact secondaire où L_A domine la zone de transition estuarienne et le Golfe et L_B domine l'estuaire. Ces schémas de distribution peuvent indiquer des préférences différentielles d'habitat entre les deux lignées, puisque les conditions de salinité et de température varient au sein du système du Saint-Laurent.

Mots clés : diversité génétique, structure génétique, crustacés marins, Océan nord Atlantique tempéré froid, estuaires, ADN mitochondrial, gène COI, refuges glaciaires

ABSTRACT

Widespread species often show typical eurytherm and euryhaline traits over large geographic scales. Genetic differentiation among species characterized by low dispersal capacities are well documented. In estuarine environment, dispersal barriers can also promote genetic divergence among populations. Furthermore, climatic events throughout the Pleistocene are recognized to have had significant impacts on the genetic structure of coastal species. All of these contemporary and historical forces are known to have shaped most of the present-day distributions of North American marine organisms. This study aimed to describe the phylogeography, the genetic diversity and the population genetic structure of the widespread mysid *Neomysis americana* (Crustacea, Mysida), a key species in estuarine food webs using a barcoding approach. Populations across the species's northwest Atlantic distribution range were sampled, with special emphasis on the St. Lawrence system. Sequencing of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) revealed three divergent ($>3\%$) lineages across the sampling area ($n = 420$ individuals, 28 stations). High levels of molecular diversity within-stations were found (mean $h_d = 0.91$ and $\pi = 0.094$). A significant geographic genetic structure (AMOVA) occurred at the regional scale among populations from different regions, Chesapeake Bay (lineage C, L_C), Penobscot Bay (lineage A, L_A), the St. Lawrence system (lineages A+B, $L_A + L_B$). This genetic population structure highlights two geographic breaks, both occurring along the northwest Atlantic coast 1) between Penobscot Bay and Chesapeake Bay and 2) between Penobscot Bay and the St. Lawrence System. These results highlight that potential oceanographic discontinuities, habitat fragmentation and the limited dispersal potential of *N. americana* result in restricted gene flow among these populations. Inferences of divergence time between the three lineages support early/mid Pleistocene (2.0-1.3 Mya) vicariant events and divergence of lineages in different northern (Grand Banks) and southern (Georges Bank) glacial refugia. Two of the three lineages recolonized the St. Lawrence system after the last glacial maximum, so that the St. Lawrence system became a secondary contact zone. Within this secondary contact zone the two lineages dominated different regions. The lineage A dominated the estuarine transition zone and the Gulf of St. Lawrence populations, whereas the lower St. Lawrence estuary was dominated by the lineage B. This distribution patterns may indicate differential habitat preferences between both lineages, as the salinity and temperature conditions vary throughout the St. Lawrence system. These findings were congruent with other marine species in the St. Lawrence system and along the northwest Atlantic coast.

Keywords: genetic diversity, genetic structure, marine crustacean, Cold Temperate North Atlantic Ocean, estuary, mt-DNA, COI, glacial refugia

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	ix
RÉSUMÉ	xi
ABSTRACT.....	xiii
TABLE DES MATIÈRES	xv
LISTE DES TABLEAUX	xvii
LISTE DES FIGURES	xix
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
La phylogéographie.....	1
Les concepts d'espèce	2
Délimitation d'espèces par une approche de code-barre ADN « DNA barcoding »	5
Complexes d'espèces cryptiques.....	7
Mécanismes impliqués dans l'apparition d'espèces cryptiques.....	8
Les mysidacés (biologie, écologie, distribution), <i>Neomysis americana</i> (Mysida)	13
Objectifs et hypothèses	16
Organisation du mémoire.....	17
CHAPITRE 1 PHYLOGÉOGRAPHIE DE L'ESPÈCE FOURRAGÈRE <i>NEOMYSIS AMERICANA</i> (MYSIDA).....	19
1.1 RESUME EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE	19
PHYLOGEOGRAPHY OF THE FORAGE SPECIES <i>NEOMYSIS AMERICANA</i> (MYSIDA).....	23
1.2 INTRODUCTION	23
1.3 MATERIALS AND METHODS	27

1.3.1	SAMPLING	27
1.3.2	DNA SEQUENCING (EXTRACTION, AMPLIFICATION, SEQUENCING)	29
1.3.3	DATA ANALYSES	31
1.3.4	GENETIC HETEROGENEITY	31
1.3.5	PHYLOGENETIC ANALYSES	31
1.3.6	ANALYSE OF MOLECULAR COVARIANCE	32
1.3.7	DEMOGRAPHIC INFERENCE	33
1.4	RESULTS	35
1.4.1	<i>N. AMERICANA</i> GENETIC DIVERSITY AND LINEAGE DISTRIBUTION	35
1.4.2	HIERARCHICAL PATTERNS OF GENETIC SUBDIVISION OF THE LINEAGE A	43
1.4.3	DEMOGRAPHIC HISTORY	44
1.5	DISCUSSION	47
1.5.1	GENETIC DIVERSITY AND GEOGRAPHIC PATTERNS IN THE COLD TEMPERATE NORTHWEST ATLANTIC (CTNA)	47
1.5.2	EVOLUTIONARY HISTORY	52
1.5.3	BIOGEOGRAPHICAL HYPOTHESIS OF POST GLACIAL DISPERSAL	53
1.5.4	ACKNOWLEDGMENTS	55
	CONCLUSION GÉNÉRALE	57
	Structure génétique de l'espèce <i>N. americana</i> dans son aire de répartition indigène nord-américaine	57
	Phylogéographie de l'espèce <i>N. americana</i> dans l'Estuaire et le Golfe du Saint- Laurent	58
	Limites de l'étude et perspectives	59
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	65

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Concepts d'espèces considérés (tiré de De Queiroz, 2007).....	3
Table 2: Locations sampled within the native geographic range of <i>Neomysis americana</i> populations. N represent the number of individual sequenced per site	28
Table 3 : Genetic diversity of populations and lineages of <i>Neomysis americana</i> using 601 bp of COI-gene	36
Table 4 : Analysis of molecular variance (AMOVA, Excoffier <i>et al.</i> 2005) of COI sequences of <i>Neomysis americana</i> (a) among and within lineages, (b) among and within regions without lineage distinction, (c-f) among and within regions within lineage A. Φ_{CT} is defined as the variance among groups divided by total variance ($\Phi_{CT} = \Phi_a^2 / \Phi_T^2$), Φ_{SC} is the variance among populations divided by the variance among and within populations ($\Phi_{SC} = \Phi_b^2 / (\Phi_b^2 + \Phi_c^2)$) and Φ_{ST} is the variance among groups and among populations divided by total variance ($\Phi_{ST} = (\Phi_a^2 + \Phi_b^2) / \Phi_T^2$; Excoffier <i>et al.</i> 2005). Sites with $N \leq 5$ were removed from analyses. ETZ refers to the Estuarine Transition Zone of the St. Lawrence Estuary, SLE to the lower St. Lawrence Estuary, GSL to the Gulf of the St. Lawrence, PB to the Penobscot Bay and CB to the Chesapeake Bay	37
Table 5: Pairwise genetic Φ_{ST} values (below diagonal) and results of exact permutation test differentiation (Raymond & Rousset 1995; 100,000 steps in Markov chain; above diagonal) a) among regions all lineages included and b) among regions within lineage A using 601 bp COI fragment. Data from sites 10, 13, 20, 22–24 were not included because of their low (N).....	38
Table 6 : Statistical tests of deviation from the standard Wright–Fisher neutral model, used to test for population growth. Sites are in parentheses. Tests were performed with 1000 permutations. ^{n.s.} , not significant, $P > 0.05$	44

Table 7: Population genetic parameters estimated by pairwise haplotype mismatch analysis under a sudden expansion model (Schneider and Excoffier, 1999). Timing of population expansion were calculated, assuming three generations per year and a mutation rate of 0.7% million.years ⁻¹	45
--	----

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Diagramme représentant la place centrale de la phylogéographie au sein des processus évolutifs	1
Figure 2 : Processus de spéciation schématisé montrant la divergence de deux lignées phylétique (nuances de gris) après l'apparition d'une barrière géographique favorisant la spéciation de chacune d'elles par l'acquisition discrète de caractères spécifiques intrinsèques (CSI 1-4) menant à l'apparition de deux espèces distinctes (ligne rouge). Les abréviations réfèrent aux différents concepts d'espèces présentés dans le tableau 1. L'étoile rouge représente la formation d'un complexe d'espèces cryptiques si les critères nouvellement acquis ne sont pas d'ordre phénotypiques et que la différenciation génétique entre les lignées A et B atteint 3% (i.e. mt-COI chez les crustacés). Le complexe d'espèces cryptiques est maintenu après la révision taxonomique en accord avec la définition de Bickford <i>et collab.</i> , (2007). Schéma adapté et modifié de De Queiroz (2007)	4
Figure 3 : Schéma simplifié de la délimitation d'espèce via la méthode de DNA barcoding est également représentée. Les courbes gaussiennes représentent les variations intraspécifiques en rouge et interspécifiques en jaune. (A) montre un scénario idéal avec la présence du « barcode gap » qui permet de différencier deux espèces via leur distance génétique réparties de manière discrète. (B) montre un scénario ou les distances génétiques intra- et interspécifique se chevauche. * Les complexes d'espèces cryptiques se situent généralement dans la zone orange avec des taux de différenciation génétique compris entre 2% et 18%. Schéma tiré de Meyer & Paulay (2005)	5
Figure 4 : Génome mitochondrial d'une cellule animale où est représenté le gène du cytochrome oxydase 1(COI). Schéma d'une mutation survenue au sein de la séquence du gène COI créant deux haplotypes différents	6
Figure 5 : Schéma conceptuel des mécanismes de spéciation allopatrique et sympatrique.....	10

Figure 6 : a) Carte représentant l'extension maximale du couvert de glace laurentidien durant le dernier maximum glaciaire (18 000 ans). R1 et R2 représentent respectivement le refuge «Grands Bancs de Terre-Neuve » et « Banc de Georges ». b) Les flèches représentent les routes de recolonisation présumées de deux copépodes à travers le plateau continental durant le retrait des glaces, survenue après le dernier maximum glaciaire. c) Carte représentant les refuges supposés de Grand Banks ayant pu abriter des populations de *N. americana* durant le dernier maximum glaciaire. Figures adaptées de Ives, 1978; Stemberger, 1995 et Dyke, 2004..... 12

Figure 7 : Dessin d'adultes (a) femelle, (b) mâle appartenant au genre *Neomysis*. M: Marsupium (ou poche marsupiale indiquée par un M). Adapté de World Register of Marine Species (WORMS) 14

Figure 8 : Cartes représentant (A) la distribution de *Neomysis americana* le long de la côte Nord-ouest Atlantique. D'après Williams *et collab.*, 1974; Pezzack & Corey, 1979; Mauchline, 1980. (B) Représentation des limites écorégionales principales de l'aire d'étude. Les lignes noires représentent la position des zones de ruptures géographiques majeures connues. Adapté de Spalding *et collab.*, 2007..... 16

Figure 9: Geographic lineage distribution of *Neomysis americana* populations, based on 601 bp COI. Numbers indicate sampling sites (see Table 2). Red, blue and green colors represent haplotypes from the Atlantic lineage A, B and C, respectively..... 29

Figure 10 : Parsimony mt-DNA haplotype network for *Neomysis americana* using TCS model (10 000 iterations). Black circles represent missing node haplotypes. Colours indicate the haplotypes geographic regional origins. Dashes represent nucleotide mutation steps between two related haplotypes. Stars represent number of mutations (*14 mutations, **20 mutations) between the two nearest haplotypes of two different lineages..... 39

Figure 11: Haplotype distribution of *Neomysis americana* 601bp mt-COI fragment at each sampling location. Haplotypes from the Atlantic lineage A are in shade of red, orange, yellow brown and purple. Cool colors such as the gradation of blue and green represent the Atlantic lineages B and C, respectively. Fill patterns represent unique and private haplotypes for each lineage 40

Figure 12: Phylogeny of the *Neomysis americana* species complex using a 601 bp fragment of the cytochrome c oxidase I gene. The phylogeny shown was constructed using the Bayesian approach (see Materials and methods). Scale bar corresponds to

pairwise percentage differentiation between two haplotypes. Numbers next to nodes are bootstrap values for major nodes based on 10,000 bootstrap replicates using parsimony (upper number), distance (middle number) and maximum-likelihood (lower number) reconstructions models. Numbers in brackets indicate the number of individuals sharing this haplotype. Colors represent distinct lineages (> 3% bp differences). *Neomysis integer* 601bp mt-COI sequence was used as an outgroup (GenBank: AJ852567.1) 42

Figure 13 : Pairwise haplotype mismatch distributions of populations of *Neomysis americana*. The red dashed lines represent the expected pairwise mismatch distribution under a Wright–Fisher model, while the solid lines represent the observed frequencies. Graphics (a-c) represent populations within the lineage A from a) the combination of the estuarine transition zone (ETZ_A : sites 1-16) and the lower St. Lawrence estuary (SLE_A : sites 17-22), b) the Gulf of St. Lawrence (GSL_A : sites 22-26), c) the Penobscot Bay (PB_A : site 27) regions. Graphics (d) represent the lineage B populations from the St. Lawrence estuary (SLE_B : sites 17-21) and (e) represent the lineage C from the Chesapeake Bay (CB_C : site 28) 46

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La phylogéographie

Apparue à la fin du 20^e siècle, la « phylogéographie » est actuellement considérée comme une composante principale de la biogéographie, science qui vise à comprendre comment la géographie et le climat ont façonné la répartition contemporaine de la biodiversité terrestre et marine (Wiens & Donoghue, 2004; Linder, 2017). En effet, la phylogéographie s'intéresse à la distribution spatiale des lignées génétiques d'espèces proches à fine échelle temporelle (microévolution) et se base sur les variations de paramètres environnementaux passés pour expliquer leur répartition contemporaine (macroévolution) (Fig. 1; Avise *et collab.*, 1987; Avise, 1998, 2009).

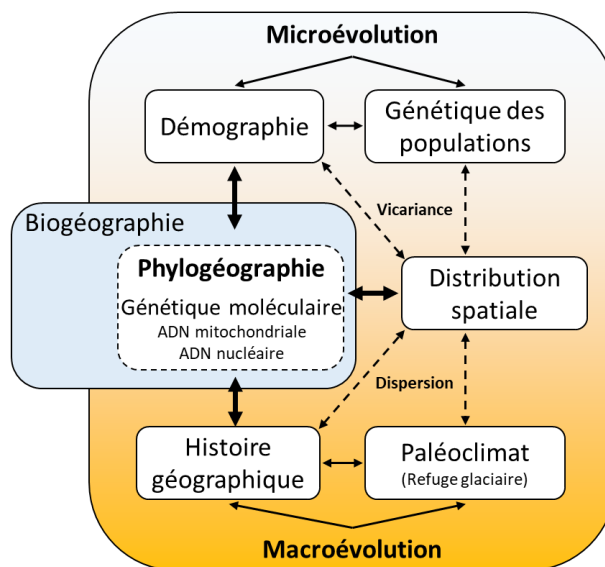


Figure 1 : Diagramme représentant la place centrale de la phylogéographie au sein des processus évolutifs

Par conséquent, cette science intègre un grand nombre de paramètres susceptibles d'influencer la répartition de ces espèces et peut, à terme, contribuer à la mise en place de politiques de conservations environnementales (p. ex. préservation d'espèces menacées). La majorité des études phylogéographiques, et plus généralement des sciences basées sur l'écologie, la macroévolution, la biologie de la conservation et la biogéographie, utilisent communément l'« espèce » comme unité fondamentale dans leurs recherches (Avice, 2000; Sites & Marshall, 2004).

Les concepts d'espèce

Le concept d'espèce recense pas moins de 22 définitions qui divergent de par la nature du modèle biologique, le contexte de spéciation mis en avant par l'auteur ou encore les critères évalués (morphologiques, génétiques, écologique, comportementales, etc.) (Mayden, 1997; Wiens, 2007; Dellicour & Flot, 2015; Flot, 2015). Il existe cependant certains concepts de base, résumés dans le tableau 1, sur lesquels la communauté scientifique s'appuie pour réaliser ces recherches. Il est par conséquent aisé de constater les limites de chacune d'entre elles dans la délimitation d'une espèce. En effet, De Queiroz (1998) souligne que les processus de spéciation impliqués dans chacun des concepts d'espèce contribuent à masquer les frontières tangibles qui permettent d'identifier de manière formelle la présence d'une ou plusieurs espèces. Il en résulte une utilisation d'un concept d'espèce adapté au questionnement posé par les auteurs (Agapow, 2004). De Queiroz (1998, 2005, 2007) propose alors d'unifier certains concepts afin de pallier à cette problématique. Il propose alors la notion de « Concept unifié de l'espèce » selon lequel les espèces sont considérées comme des lignées accumulant des propriétés spécifiques au cours de leurs histoires évolutives respectives. Ces dernières étant influencées par des pressions de sélection propres à l'espace spatiale et temporelle dans lesquels les lignées évoluent (Fig. 2). Cet auteur suggère donc qu'une forme de consensus est possible et conclue qu'à terme, l'ensemble des critères énoncés par les différents concepts devrait être acquis pour considérer deux lignées

comme deux espèces distinctes. Ce phénomène progressif est illustré par la zone grise et peut être visualisé comme la zone conflictuelle de l'ensemble des concepts d'espèce.

Tableau 1 : Concepts d'espèces considérés (tiré de De Queiroz, 2007)

Concept d'espèce	Abr.	Propriété(s) principale(s)	Auteur(s)
Phylogénétique	CP	Groupe monophylétique partageant des caractères moléculaires ou morphologiques hérités d'un ancêtre commun direct	Donoghue (1985)
Biologique	CB	Croisement possible et isolement reproductif intrinsèque	Mayr (1942, 1963); Dobzhansky (1950)
Écologique	CE	Zones adaptatives distinctes (niches)	Van Valen (1976)
Cluster Génotypique	CG	Ensemble d'individus formant un groupe génétiquement similaire (déficit d'intermédiaire, i. e, hétérozygote) Définition de seuils de délimitation d'espèce propres à la famille et aux genres étudiés (p. ex. 5% de différenciation génétique = deux espèces différentes)	Mallet (1995)

L'identification d'espèce selon une approche conventionnelle basée sur des variations phénotypiques peut intuitivement apparaître comme un prérequis indispensable et facile à mettre en œuvre. Cependant, il existe de nombreuses situations où cette approche fait défaut. En effet, des études récentes ont montré que les mécanismes de sélection agissant sur la spéciation influencent les caractéristiques physiologiques, reproductrices et comportementales au détriment des caractères morphologiques qui subissent une « évolution neutre » (Bensch *et collab.*, 2004; Damm *et collab.*, 2010; Derycke *et collab.*, 2016). La fixation des caractères morphologiques dans le temps rend l'identification d'espèces faisant partie d'un « complexe d'espèces cryptiques » problématique. Ce concept, exposé pour la première fois en 1718 par Derham (Winker, 2005), ne trouve pas de définition universelle. Dans ce mémoire, nous considérerons les définitions combinées de Mayr (1948) et Bickford et ces collaborateurs (2007) disant respectivement (1) qu'un complexe d'espèces cryptiques ne peut être définie sur la base de différenciations morphologiques mais peut être discriminée génétiquement (p. ex. pourcentage de différenciation intra-spécifique > 3%; Hebert *et collab.*, 2003a), (2) qu'une ou deux espèces sont considérées comme faisant partie d'un complexe d'espèces cryptiques dès lors qu'elles sont, ou ont été, classées sous la même nomenclature en raison de leur morphologie similaire (Fig. 2).

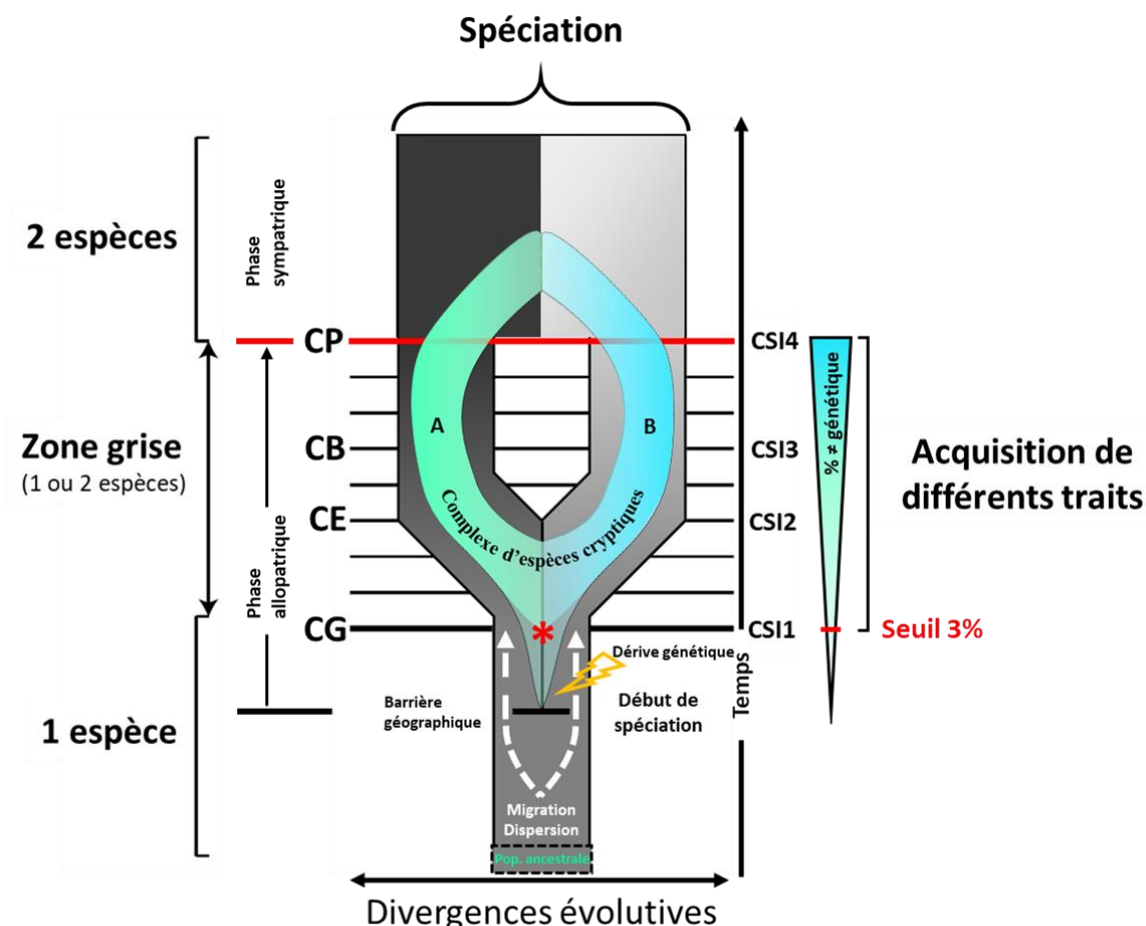


Figure 2 : Processus de spéciation schématisé montrant la divergence de deux lignées phylétique (nuances de gris) après l'apparition d'une barrière géographique favorisant la spéciation de chacune d'elles par l'acquisition discrète de caractères spécifiques intrinsèques (CSI 1-4) menant à l'apparition de deux espèces distinctes (ligne rouge). Les abréviations réfèrent aux différents concepts d'espèces présentés dans le tableau 1. L'étoile rouge représente la formation d'un complexe d'espèces cryptiques si les critères nouvellement acquis ne sont pas d'ordre phénotypiques et que la différenciation génétique entre les lignées A et B atteint 3% (i.e. mt-COI chez les crustacés). Le complexe d'espèces cryptiques est maintenu après la révision taxonomique en accord avec la définition de Bickford *et collab.*, (2007). Schéma adapté et modifié de De Queiroz (2007)

Délimitation d'espèces par une approche de code-barre ADN « DNA barcoding »

La découverte de nouveaux habitats marins et de leurs espèces associées à la fin du 20^e siècle a démontré l'importance de développer de nouvelles méthodes robustes permettant d'inventorier rapidement cette biodiversité marine. Hebert et ses collaborateurs (2003a) proposent une nouvelle approche pour l'identification des espèces, permettant de révéler efficacement la diversité spécifique marine et terrestre. Cette approche, nommée « DNA barcoding », est basée sur le principe que l'analyse de la séquence nucléotidique d'un fragment d'un gène mitochondrial (i.e sous-unité 1 du cytochrome c oxydase, COI) permet de discerner rapidement une grande majorité des espèces animales et sert de base pour caractériser l'hétérogénéité génétique de nombreuses espèces de crustacés marins (Saad and El-Sadek, 2017). La principale difficulté d'une telle méthode résidait dans le choix d'une séquence nucléotidique possédant une horloge moléculaire adéquate. En effet, cette dernière devait être suffisamment préservée au niveau intraspécifique, mais également suffisamment divergente pour distinguer deux espèces distinctes (Fig. 3). Finalement, une portion d'ADN (amorces) devait être suffisamment universelle pour permettre une utilisation sur une large gamme d'organismes.

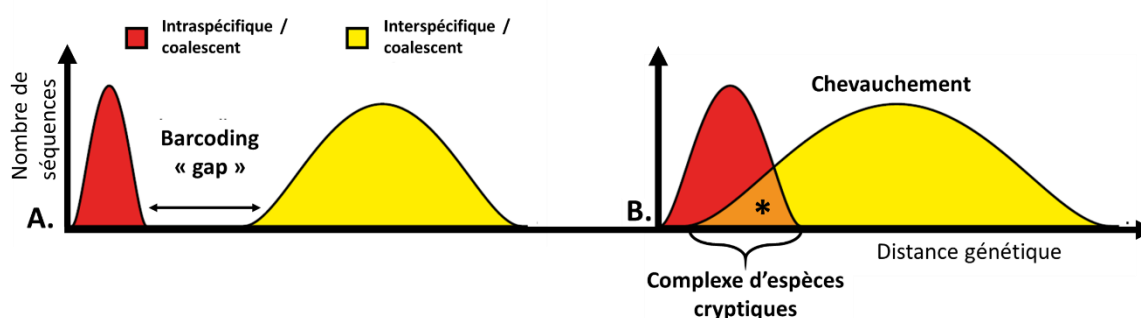


Figure 3 : Schéma simplifié de la délimitation d'espèce via la méthode de DNA barcoding est également représentée. Les courbes gaussiennes représentent les variations intraspécifiques en rouge et interspécifiques en jaune. (A) montre un scénario idéal avec la présence du « barcode gap » qui permet de différencier deux espèces via leur distance génétique réparties de manière discrète. (B) montre un scénario où les distances génétiques intra- et interspécifique se chevauchent. * Les complexes d'espèces cryptiques se situent généralement dans la zone orange avec des taux de différenciation génétique compris entre 2% et 18%. Schéma tiré de Meyer & Paulay (2005)

Les mitochondries sont présentes dans la grande majorité des eucaryotes et sont impliquées dans les processus de respiration cellulaire (production d'énergie). Chez ces derniers, l'ADN des mitochondries constitue une chaîne circulaire composée d'environ 17,000 nucléotides codant pour 37 gènes (Fig. 4) (voir Gissi *et collab.*, 2008). Le fragment d'ADN codant pour la sous unité 1 du gène COI possède les caractéristiques énoncées précédemment. De plus, sa transmission uniparentale, son taux de mutation élevé, l'absence d'introns, son nombre élevé de copies et le faible nombre de recombinaison lui confèrent des propriétés uniques (Galtier *et collab.*, 2009). Chez les crustacés, l'horloge moléculaire du mt-COI se situe entre 1,4 et 2,3 % par million d'années (Knowlton & Weight, 1998). Les variations dans la séquence nucléotidique de ce gène (Fig. 4) permettent de recréer l'histoire évolutive matrimoniale de complexes d'espèces cryptiques de crustacés (Schubart *et collab.*, 1998; Remerie *et collab.*, 2006; Winkler *et collab.*, 2008; Avise *et collab.*, 2009; Ren *et collab.*, 2016; Cheng & Sha, 2017).

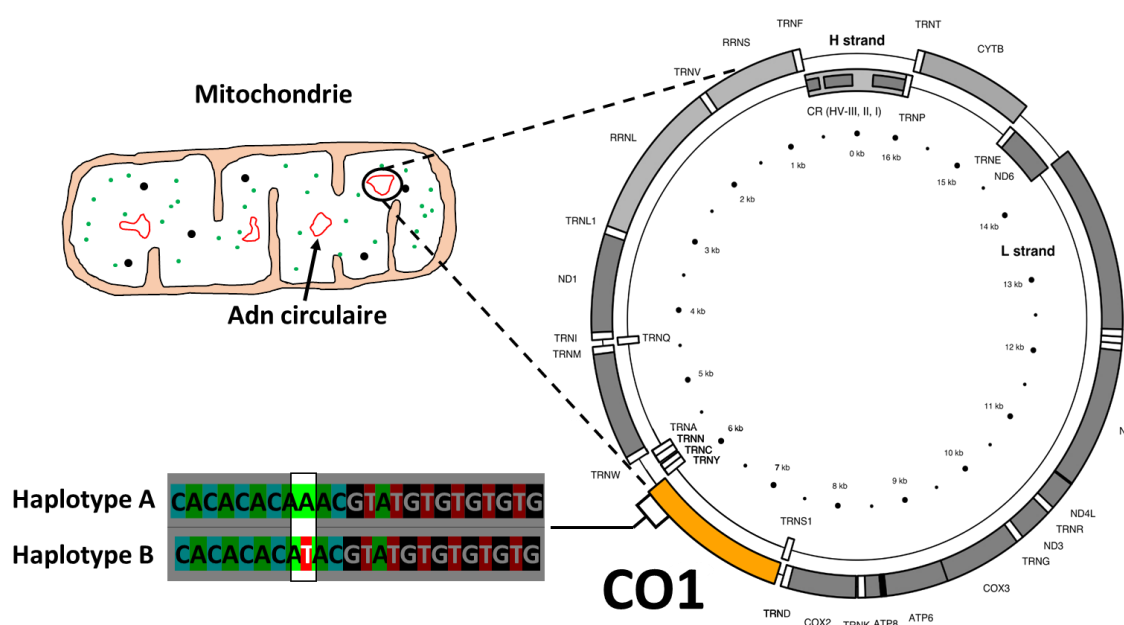


Figure 4 : Génome mitochondrial d'une cellule animale où est représenté le gène du cytochrome oxydase 1(COI). Schéma d'une mutation survenue au sein de la séquence du gène COI créant deux haplotypes différents

Complexes d'espèces cryptiques

Il est aujourd'hui admis que les complexes d'espèces cryptiques sont largement représentés, de façon hétérogène, au sein de la plupart des phylums et des biomes (Knowlton, 1993; Bickford *et collab.*, 2007; Nygren, 2014; Pérez & Poulin, 2016). Malgré une littérature de plus en plus exhaustive sur le sujet, seule une infime portion des complexes d'espèces cryptiques semble avoir été découverte (Knowlton, 1993). Un complexe d'espèces cryptique est composé d'au moins deux groupes d'individus dont les séquences d'ADN mitochondrial divergent à plus de 3 % (pourcentage arbitraire communément utilisé par la communauté scientifique pour distinguer deux lignées intraspécifiques, Hebert *et collab.*, 2003 ; Radulovici *et collab.*, 2009). Ces groupes distincts sont appelés « lignées ». Ces dernières peuvent se différencier sur de nombreux aspects. Plusieurs études ont montré que des espèces cryptiques peuvent se différencier par leurs: physiologie (Cabrol *et collab.*, 2015), comportements de nourrissage (Smith, 2013; Derycke *et collab.*, 2016), reproduction (Lee, 2000; Zhang *et collab.*, 2004; Paxton & Åkesson, 2010; Ruokolainen & Hanski, 2016), ou encore, préférences environnementales envers certaines niches écologiques (Favier & Winkler, 2014; Scriven *et collab.*, 2016; Dionne *et collab.*, 2017) liées à la température et la salinité (Muangmai *et collab.*, 2015). De plus, ces différences constitueraient le reflet de forces et contraintes évolutives agissant sur chacune des lignées du complexe de façon dissemblable (Altermatt *et collab.*, 2014). Il paraît donc nécessaire de prendre en considération la présence de complexe d'espèce au sein des écosystèmes afin de mieux comprendre leurs dynamiques. De plus, l'omniprésence de complexes d'espèces cryptiques incite la communauté scientifique à mettre en place des plans de gestion et de conservation d'espèces considérées comme rares, endémiques ou envahissantes (Witt *et collab.*, 2006; Bickford *et collab.*, 2007; Winkler *et collab.*, 2008). La présence de tels complexes au sein d'espèces dites « bio-indicatrices » ou « sentinelles » montre également leurs importances dans l'évaluation de l'état de santé des écosystèmes (Guerra-Garcia & Garcia-Gomez, 2001; Durou *et collab.*, 2007). L'ignorance des complexes d'espèces dans l'élaboration des programmes de conservation pourrait avoir un impact majeur sur l'efficacité de ces derniers si les stratégies de développement ne correspondent pas à l'ensemble des traits biologiques

des différentes espèces intrinsèques aux complexes d'espèces cryptiques (Sattler *et collab.*, 2007). Pour certains auteurs, la découverte de la partie « invisible » de la diversité biologique ainsi que sa description biogéographique devraient devenir des axes de recherches fondamentales dans un monde faisant face à une extinction majeure de biodiversité (Bickford *et collab.*, 2007). De plus, la sous-estimation du nombre d'espèces pourrait renforcer ce phénomène (Mora *et collab.*, 2011; Pimm *et collab.*, 2014). L'étude des espèces cryptiques dans le milieu marin s'intègre parfaitement dans ce cadre (Hirai *et collab.*, 2015; Bowen *et collab.*, 2016). Comme dit précédemment, la phylogéographie, et plus généralement la biogéographie sont des sciences dites multidisciplinaires prenant en considération une multitude de paramètres afin d'expliquer la répartition contemporaine des espèces et de leurs sous-ensembles génétiques (p. ex. complexes d'espèces cryptiques). Ces unités biologiques, constituant le fondement de ces sciences, il paraît nécessaire d'assimiler certains mécanismes généraux, impliqués dans l'apparition de tels complexes d'espèces.

Mécanismes impliqués dans l'apparition d'espèces cryptiques

Tout comme les théories de spéciation, longuement débattues, les difficultés inhérentes à la compréhension des mécanismes impliqués dans la définition des espèces cryptiques restent un sujet nouvellement étudié et donc soumis à controverse (Egea *et collab.*, 2016). Actuellement, très peu d'études se sont intéressées aux processus impliqués dans la divergence des espèces cryptiques (Egea *et collab.*, 2016).

Certains modèles évolutionnistes tendent à mettre en évidence que les variations morphologiques entre différentes espèces sont exclusivement liées aux contraintes associées à des mécanismes aléatoires survenus dans le passé (Adams *et collab.*, 2009). Dans ce type de modèle, l'évolution des différences morphologiques entre deux espèces dépendrait principalement du temps séparant ces deux espèces. Appliqué aux espèces cryptiques, cela signifie que le temps de divergence entre deux lignées au sein du complexe doit être suffisamment court pour ne pas avoir accumulé de différences morphologiques (Gustafsson

et collab., 2014; Zúñiga-Reinoso & Benitez, 2015). Toutefois, des recherches ont montré que les mécanismes de sélection agissant sur la spéciation influencent en premier lieu les caractéristiques physiologiques, reproductrices et comportementales au détriment des traits morphologiques subissant une évolution neutre (Bensch *et collab.*, 2004; Damm *et collab.*, 2010; Derycke *et collab.*, 2016). De plus, dans des cas particuliers, de larges effectifs et de taux élevés de polymorphisme ancestral, les traits morphologiques peuvent évoluer lentement (Egea *et collab.*, 2016). Néanmoins, des biais peuvent être générés selon les méthodes utilisées pour estimer les âges de divergence intraspécifique car ces dernières changent perpétuellement et se basent sur des paramètres encore mal compris (Dos Reis *et collab.*, 2015). L'hypothèse liée à une récente divergence ne peut cependant pas expliquer l'existence d'espèces cryptiques ayant divergées il y a plusieurs millions d'années.

Dans ce contexte, l'hypothèse de stase évolutive (ou conservatisme phylogénétique de niche écologique) a été formulée. Elle vient du postulat que l'évolution des différences morphologiques entre les espèces ancestrales et les espèces contemporaines sont directement liées à des facteurs intrinsèques (p. ex. développement et/ou contraintes génétiques) et/ou extrinsèques (p. ex. changements des niches trophiques, variations des pressions environnementales). Ce phénomène est connu sous le nom de « stase morphologique » (Harvey, 1991; Lieberman 1996; Bickford *et collab.*, 2007; Smith *et collab.*, 2011; Bravo *et collab.*, 2014). Cette hypothèse était initialement utilisée pour expliquer les tendances de certaines lignées à se maintenir dans un environnement particulier au cours du temps. Ce concept a d'ailleurs relativement peu évolué depuis un des mécanismes de spéciations les plus généralistes et applicable à l'ensemble du règne animal concerne la dérive génétique (ou « genetic drift », anglais). Débattu depuis plusieurs décennies par la communauté scientifique (Wright 1931, 1932) ce phénomène s'intègre dans les théories de l'évolution dans lesquelles il est considéré comme un processus stochastique (aléatoire) peu étudié et donc mal compris. À l'heure actuelle la dérive génétique est un mécanisme évolutif dans lequel les fréquences alléliques d'une population vont être modifiées de manière aléatoire d'une génération à l'autre (Mayr, 1954). Le résultat peut entraîner la disparition de certains allèles et/ou la fixation d'autres. Ce phénomène se produit au sein de populations dont la taille est dite «

finie ». Son effet sur les fréquences alléliques est cependant plus important sur des populations de petites tailles (p. ex. catastrophes naturelles, glaciations, effets fondateurs) (Barton, 1984). Les complexes d'espèces cryptiques peuvent donc apparaître au sein de populations restreintes ayant subies des pressions de sélection importantes due à des phénomènes aléatoires.

Ces concepts, mettant en avant les types de spéciation allopatrique et sympatrique (Fig. 5; Coyne, 1992), ont été montrés chez les annélides qui ne présentent que de très faibles variations morphologiques après plusieurs dizaines de millions d'années d'évolution et présentent de nombreux exemples de complexes d'espèces cryptiques (Struck *et collab.*, 2017). Cette hypothèse ne peut toutefois pas expliquer que deux espèces n'ayant pas d'ancêtre commun direct soient morphologiquement similaires.

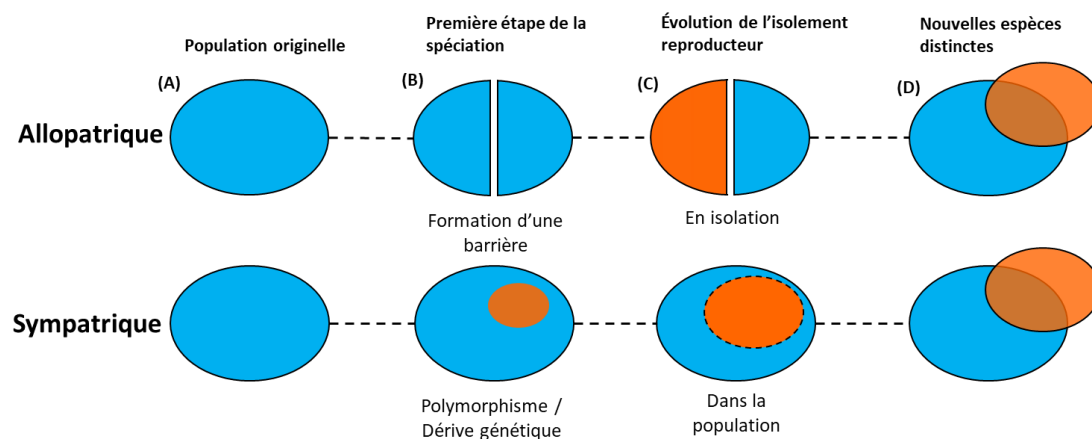


Figure 5 : Schéma conceptuel des mécanismes de spéciation allopatrique et sympatrique

Finalement la structure génétique contemporaine d'une espèce constitue la réflexion de l'impact de forces historiques et récentes tels que les mécanismes de dispersion (c.-à-d. mouvement d'individus) et de flux génique (c.-à-d. mouvement des allèles). Les effets de ces contraintes évolutives se retrouvent dans la distribution contemporaine de la structure génétique des espèces (Avice, 2000; Hewitt, 2000; Garant *et collab.*, 2007). La synergie de ces forces montre son influence sur les espèces peuplant la province Nord-Ouest Atlantique tempérée froide (Hewitt, 2000, Wares, 2002; Spalding *et collab.*, 2007). En effet, l'ère du

Pléistocène caractérise une des périodes ayant modifiée, de manière significative, les conditions océaniques Nord Atlantique sur plusieurs millions d'années (-2.5Ma – -12ka, Marshall & Clarke, 1999; Dyke, 2004; Person *et collab.*, 2007). Cette période est caractérisée par la succession d'une vingtaine d'épisodes glaciaires (environs 100 000 ans) et interglaciaires (10 000 – 12 000 ans; Martinson *et collab.*, 1987) au cours desquels de nombreuses espèces ont vu leurs aires de répartition s'ajuster en fonction de leurs adaptabilités aux changements environnementaux. Chaque cycle se traduisait alors par des épisodes d'extinction pour les espèces incapables de s'adapter aux changements environnementaux rapides (p. ex. espèces peu résilientes ou faible capacité de dispersion) et à la migration d'autres espèces dans des zones libres de glace (p. ex. refuge glaciaire) pendant les périodes de glaciation. Ces phases de destructions laissaient ensuite place à des mouvements migratoires de recolonisation pendant les périodes interglaciaires. L'époque du Pléistocène est par ailleurs considérée comme l'un des moteurs de spéciation chez un grand nombre d'espèces de crustacés du nord de l'Atlantique (Audzijonyte *et collab.*, 2005; Audzijonyte & Vainola, 2006; Audzijonyte, 2006; Lejeusne & Chevaldonne, 2006; Remerie *et collab.*, 2006; Remerie *et collab.*, 2009; Wilson & Veraguth, 2010 ; Rastorgueff *et collab.*, 2014).

En Amérique du Nord, le dernier maximal glaciaire (Wisconsinien) remonte il y'a 18.000 ans. L'inlandsis laurentidien recouvrait alors la majeure partie de l'Amérique du Nord, laissant toutefois le nord et l'est de Terre-Neuve (Grands Bancs de Terre-Neuve) mais également la partie sud de l'état de New York (Banc de Georges) libres de glace, appelés refuges glaciaires (Fig. 6a-c; Ives, 1978; Marshall *et collab.*, 2002). Par ailleurs, plusieurs études phylogéographiques suggèrent un probable maintien de certaines populations d'espèces côtières dans ces refuges isolant ces dernières pendant le dernier maximum glaciaire (Bernatchez, 1997; Lee, 2000; Winkler *et collab.*, 2008). Le retrait des glaces a engendré l'apparition de plusieurs nouvelles routes de colonisation, via la mer de Champlain pour les populations venues du sud et via le Saint-Laurent pour les populations venues du nord (Fig. 6b). Certaines d'entre elles auraient alors pu rentrer en contact (c.à.d. contact secondaire) dans l'estuaire et le golfe du Saint-Laurent.

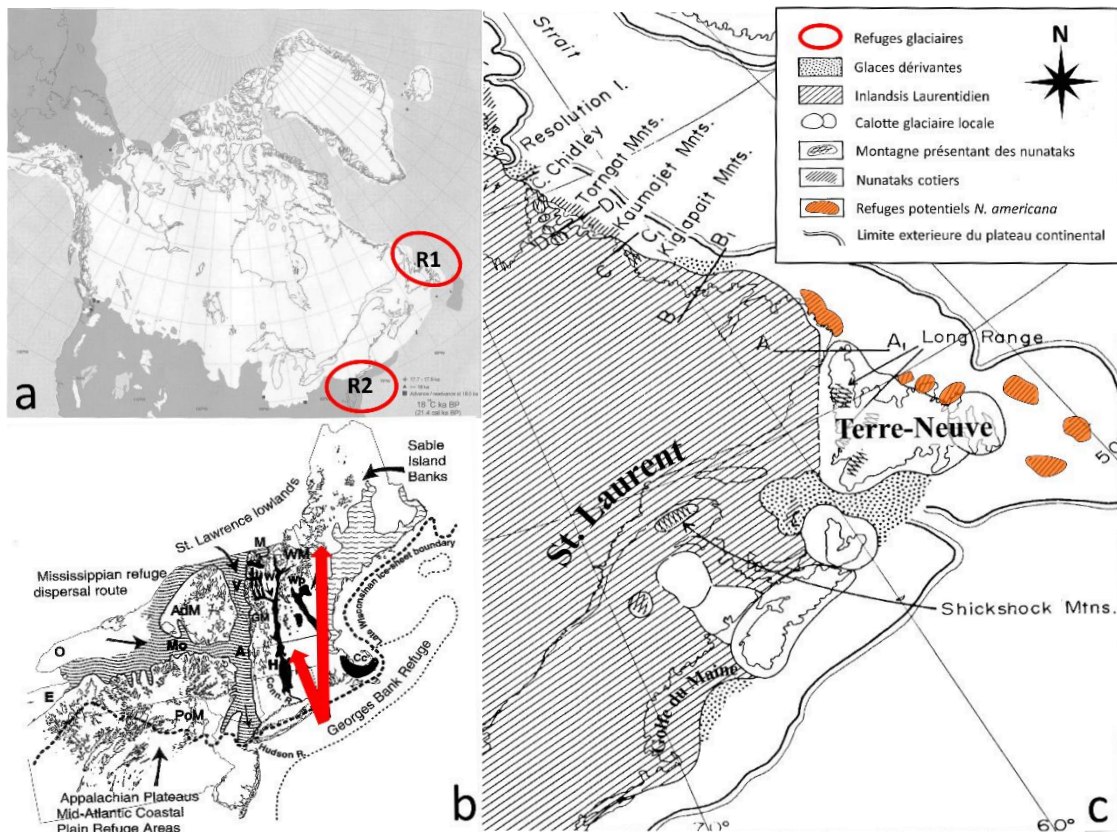


Figure 6 : a) Carte représentant l'extension maximale du couvert de glace laurentidien durant le dernier maximum glaciaire (18 000 ans). R1 et R2 représentent respectivement le refuge «Grands Bancs de Terre-Neuve » et « Banc de Georges ». b) Les flèches représentent les routes de recolonisation présumées de deux copépodes à travers le plateau continental durant le retrait des glaces, survenue après le dernier maximum glaciaire. c) Carte représentant les refuges supposés de Grand Banks ayant pu abriter des populations de *N. americana* durant le dernier maximum glaciaire. Figures adaptées de Ives, 1978; Stemberger, 1995 et Dyke, 2004

Malgré leurs apparentes homogénéités, les écosystèmes marins apparaissent comme des environnements extrêmement dynamiques. C'est dernier vont alors avoir un impact direct sur la répartition contemporaine de la structure génétique des espèces marines. La plupart des études phylogéographiques réalisées sur la côte nord-ouest de l'océan Atlantique s'intéresse à des espèces possédant généralement des cycles de vie caractérisés par des stades larvaires pélagiques de longue durée augmentant leur capacité de dispersion. Il est également connu que les espèces à faible capacité de dispersion ont tendance à montrer des structures génétiques particulières (Radulovici, 2012; Chust *et collab.*, 2016). En revanche, un nombre limité d'études se sont intéressées aux espèces de mysidacés, caractérisées par de faibles capacités de dispersion (Remerie *et collab.*, 2006; Remerie *et collab.*, 2009; Rastorgueff *et collab.*, 2014).

Les mysidacés (biologie, écologie, distribution), *Neomysis americana* (Mysida)

Un grand nombre d'organismes marins sont caractérisés par une large répartition (Knowlton, 1993). L'ordre des Mysides comporte actuellement 1132 espèces réparties à travers les océans (Meland *et collab.*, 2015). Ces crustacés holoplanctoniques mesurent entre 3-25mm de long et sont communément représentés dans les milieux dulcicoles, lacustres, côtiers ainsi que dans les profondeurs océaniques (Mauchline, 1980; Wittmann, 1999; Porter *et collab.*, 2008, Meland *et collab.*, 2015). Leur forte abondance fait de ces organismes une composante majeure des communautés zooplanctoniques des écosystèmes côtiers et estuariens (Jumars, 2007; Winkler *et collab.*, 2007). Leurs régimes alimentaires omnivores leur permettent de jouer un rôle clé dans les transferts d'énergie vers les niveaux trophiques supérieurs (Fulton, 1982; Corey, 1988; Winkler *et collab.*, 2003). De plus, les mysidacés possèdent un cycle de développement direct. En effet, ils disposent d'un organe appelé « marsupium » dans lequel les œufs fécondés vont se développer jusqu'au stade juvénile avant de se disperser dans le milieu (Fig. 7). Ce développement limite la dispersion durant les phases du développement embryonnaire et larvaire (Wittman, 1984).

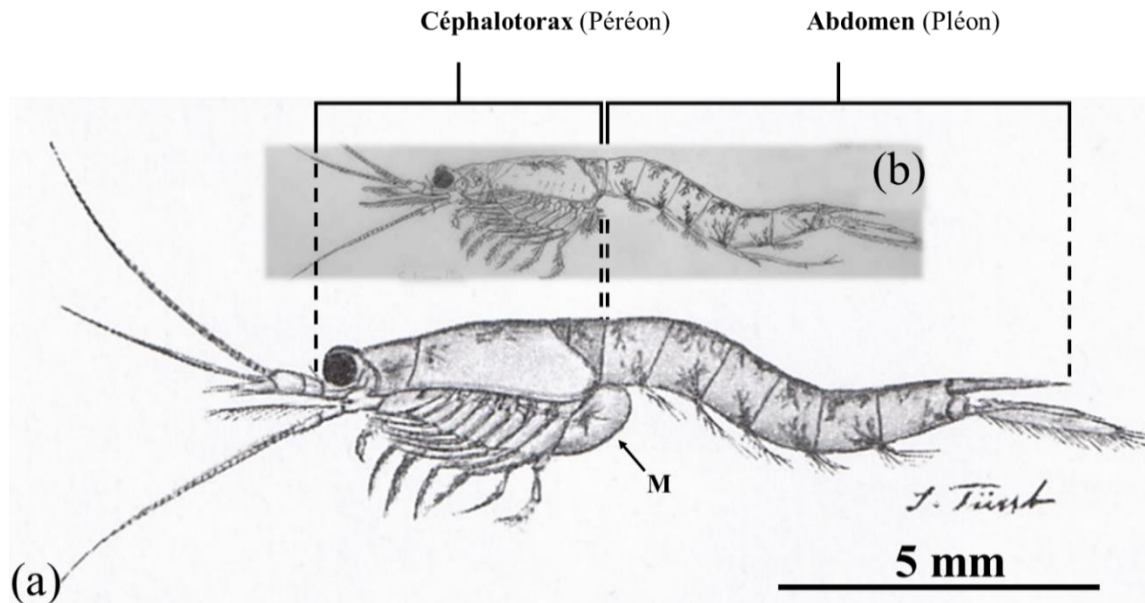


Figure 7 : Dessin d'adultes (a) femelle, (b) mâle appartenant au genre *Neomysis*. M: Marsupium (ou poche marsupiale indiquée par un M). Adapté de World Register of Marine Species (WoRMS, consulté en Juin 2018; <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=image&tid=120136&pic=85185>)

La capacité de dispersion de cette espèce repose donc sur les facultés natatoires des stades juvéniles et adultes (dynamique) grâce à leurs migrations nycthémerales (Herman, 1963) leur permettant de se maintenir dans un habitat favorable et d'éviter les prédateurs (p. ex. comportement de rétention). La capacité de dispersion de *N. americana* repose également sur une dispersion passive par les courants, constituant notamment le pouvoir de dispersion à large échelle de cette espèce. Le développement direct limite ainsi le flux génique entre les populations éloignées augmentant ainsi leur différenciation génétique. La structure génétique des populations devient alors principalement ordonnée par les forces hydrodynamiques intrinsèques à l'environnement dans lequel les individus évoluent.

Le genre *Neomysis* compte 17 espèces qui sont pour une grande majorité adaptées à une large gamme environnementale (Wigley & Burns, 1971; Pezzack & Corey, 1979; Corey, 1988; Fulton, 1983; Meland *et collab.*, 2015). Leur capacité à habiter des environnements

eurythermes et euryhalins seraient à l'origine de leur vaste répartition et de leur forte abondance dans les eaux côtières des mers tempérées et des eaux subarctiques (Mauchline, 1980; Pezzack & Corey, 1982; Mees *et collab.*, 1993; Yamada *et collab.*, 2007). *Neomysis americana* (Smith, 1873) a été décrit comme étant l'espèce du genre *Neomysis* la plus abondante et communément retrouvée dans son aire de répartition Nord-ouest Atlantique. Cette espèce suprabenthique est présente entre 0 et 200 mètres de profondeur depuis l'estuaire et le golfe du Saint-Laurent jusqu'aux côtes de la Floride (Fig. 8A; Whiteley, 1948; Tattersall, 1951; Herman, 1963; Williams *et collab.*, 1974; Mauchline, 1980; Pezzack & Corey, 1979; Laprise & Dodson, 1994; Heard *et collab.*, 2006; Johnson, 2015; Mayor *et collab.*, 2017). *N. americana* produit entre deux et trois générations par années selon l'environnement dans lequel cette espèce évolue (Wigley & Burns, 1971; Williams, 1972; Bouchard, 2016; Mayor *et collab.*, 2017). Son importance dans les réseaux trophiques estuariens, ses caractéristiques euryhalines et eurythermes, sa large répartition couplée à sa faible capacité de dispersion font de cette espèce un modèle idéal pour réaliser une étude phylogéographique et mettre en avant une éventuelle structure génétique légitimant l'hypothèse formulée par Radulovici *et ces collaborateurs* (2009) supposant l'existence d'un complexe d'espèces cryptiques dans son domaine de répartition natif. En effet, l'utilisation du code-barre sur sept individus de *N. americana* dans cette étude a révélé l'existence de deux lignées divergentes à plus de 3% dans l'estuaire du Saint-Laurent.

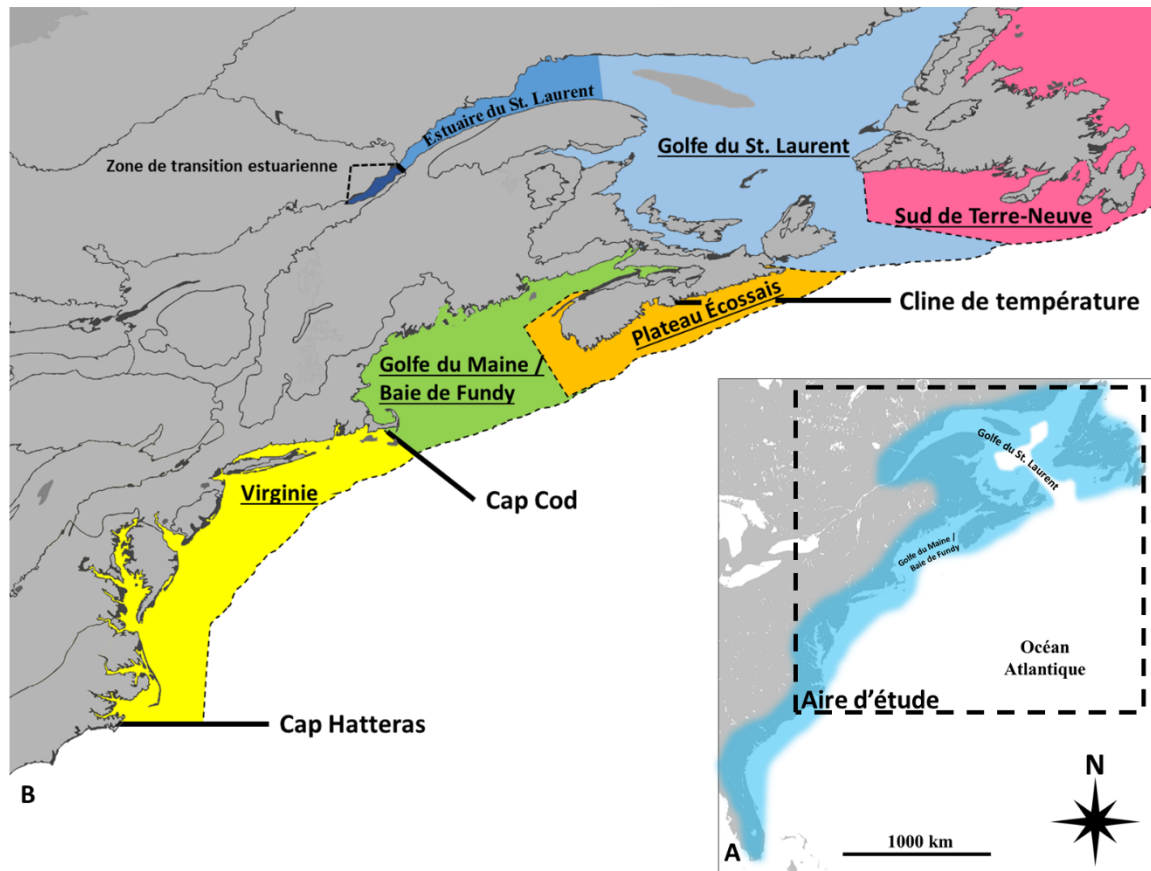


Figure 8 : Cartes représentant (A) la distribution de *Neomysis americana* le long de la côte Nord-ouest Atlantique. D'après Williams *et collab.*, 1974; Pezzack & Corey, 1979; Mauchline, 1980. (B) Représentation des limites écorégionales principales de l'aire d'étude. Les lignes noires représentent la position des zones de ruptures géographiques majeures connues. Adapté de Spalding *et collab.*, 2007

Objectifs et hypothèses

L'objectif de ce mémoire est de déterminer la structure génétique et la phylogéographie de l'espèce *Neomysis americana* à travers quatre écorégions situées dans son domaine de répartition Nord-ouest Atlantique (Fig. 8B). Pour répondre à cet objectif, le gène COI sera utilisé comme marqueur moléculaire. Ce dernier révélera les variations nucléotidiques, accumulées sur plusieurs millions d'années, au sein des séquences de chaque individu (haplotypes). L'analyse à macro et méso-échelle de ces séquences permettra quantifier la différenciation entre différentes populations via l'utilisation d'un proxy (Φ_{ST}).

Ces variations intraspécifiques serviront de base à l'élaboration d'un scénario probable de recolonisation dans l'estuaire et le golfe du Saint-Laurent pouvant expliquer la structure génétique contemporaine observée de cette espèce. Il sera finalement possible de mettre en évidence l'avènement ou non d'expansions démographiques passées chez les différentes populations échantillonnées.

La réalisation de ce projet est fondée sur deux hypothèses majeures. La première se base sur les travaux réalisés par Radulovici et ces collaborateurs (2009) et (**H1**) suppose qu'il existe une divergence intraspécifique importante soulignant la présence d'un complexe d'espèces cryptique chez *Neomysis americana* dans son aire de répartition endémique. La seconde hypothèse vise à montrer (**H2**) que les délimitations spatiales des écorégions définies par Spalding et ces collaborateurs (2007) coïncident avec les patrons de la structure génétique du gène COI de l'espèce.

Organisation du mémoire

Ce mémoire comporte un unique chapitre rédigé sous la forme d'un article scientifique intitulé: « Phylogeography and population genetics of the forage species *Neomysis americana* (Mysida) » et sera soumis au journal *Journal of Plankton Research*.

Cet article a été rédigé par Grégoire Cortial¹, Ryan Woodland², Rachel Lasley-Rasher³, et Gesche Winkler¹

¹ Institut des sciences de la Mer, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, QC, Canada

² Center of Environmental Science, Université du Maryland, Maryland, É-U

³ Darling Marine Center, Université du Maine, Maine, É-U

CHAPITRE 1

PHYLOGÉOGRAPHIE DE L'ESPÈCE FOURRAGÈRE *NEOMYSIS AMERICANA* (MYSIDA)

1.1 RESUME EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE

La découverte de structures génétiques importantes chez un nombre croissant d'espèces marines caractérisées par de larges aires de répartition contraste avec l'apparente homogénéité du milieu dans lequel elles évoluent. De plus, la mise en évidence des processus évolutifs (historiques et contemporains) à l'origine de la formation et de la répartition de ces sous-ensembles génétiques permet une meilleure compréhension (1) de leur histoire évolutive mais également (2) de l'impact que ces sous-structures génétiques peuvent avoir sur la dynamique écosystémique. Par conséquent, la détermination de la structuration génétique d'espèces clés dans les réseaux trophiques estuariens constitue un axe de recherche essentiel pour mieux comprendre leur dynamique. Cette étude vise à décrire la phylogéographie d'une espèce fourragère de mysidacé (*Neomysis americana*), essentielle à la dynamique des réseaux trophiques estuariens nord-ouest Atlantique. Vingt-huit localités ont été échantillonnées dans l'estuaire et le golfe du Saint-Laurent, dans la baie de Penobscot (Maine, É.-U.) et dans la baie de Chesapeake (Maryland, É.-U.). Trois lignées divergentes (>3%, n = 420) ont été identifiées à l'aide d'une séquence du gène cytochrome oxydase I (601pb) de l'ADN mitochondrial. La diversité moléculaire au sein des localités s'est révélée être élevée ($h_d = 0,91$ et $\pi = 0,094$). De plus, l'agencement de ces variations génétiques intraspécifiques apparaît comme étant structuré sur une échelle régionale où la lignée C domine la baie de Chesapeake, la lignée B domine l'estuaire du Saint-Laurent et la lignée A domine la baie de Penobscot (Maine) ainsi que la zone de transition estuarienne et le golfe du Saint-Laurent. L'agencement de ces structures génétiques met en évidence la présence de deux zones géographiques limitant les flux de gènes. Une première le long de la côte nord-ouest Atlantique 1) entre la baie Penobscot et la baie de Chesapeake et une seconde 2) entre la baie Penobscot et le Saint-Laurent. Les temps de divergence entre les lignées supportent des événements vicariants au cours du Pléistocène inférieur et moyen (2,0-1,3 Ma) au sein de différents refuges glaciaires situés au nord (Grands bancs de Terre-Neuve) et au sud (Banc de Georges). De plus, les lignées A et B sont sympatrique dans le Saint-Laurent indiquant une recolonisation post glaciaire, faisant de ce système une aire de contact secondaire. Finalement, les variations dans les fréquences d'occurrences des lignées au sein de régions spécifiques pourraient indiquer des préférences écologiques différentielles, puisque les conditions de salinité et de température varient fortement au sein du système du Saint-Laurent.

Ce projet s'intègre dans un programme de recherche plus vaste visant à caractériser l'impact des processus estuariens sur la production secondaire, considérant la diversité génétique, la dynamique trophique et la connectivité au sein des habitats qui les composent. J'ai organisé et participé, avec l'aide de Gesche Winkler, à la campagne d'échantillonnage durant l'été 2015 à bord des navires « MACOMA » (ISMER-UQAR) et « MORDAX » (QUÉBEC OCÉAN). J'ai ensuite réalisé l'ensemble des expériences en laboratoire incluant l'extraction et l'amplification des séquences d'ADN. Les analyses statistiques des données ont été réalisées à l'aide de différents logiciels de génétique (voir M & M). J'ai finalement interprété les données obtenues pour rédiger le présent manuscrit. L'ensemble des travaux présentés dans le présent mémoire a été effectué sous la supervision et la direction de Gesche Winkler. Enfin, Rachel Lasley-Rasher et Ryan Woodland ont échantillonné respectivement les populations de la baie de Penobscot (Maine, É.-U.) et la baie de Chesapeake (Maryland, É.-U.).

Cet article scientifique intitulé « Phylogeography of the forage species *Neomysis americana* (Mysida) » sera prochainement soumis au *Journal of Plankton Research*. Je serai premier auteur et ma directrice Gesche Winkler dernière auteure. Nos collaborateurs Ryan Woodland et Rachel Lasley-Rasher seront co-auteurs.

J'ai eu l'opportunité de présenter les résultats de ce projet lors de plusieurs congrès :

Présentations orales :

- Cortial G., Winkler G. (2018). Phylogéographie et génétique des populations de l'espèce fourragère *Neomysis americana* (Mysid). Présentation officielle des résultats de maîtrise à l'Institut des sciences de la mer de Rimouski (ISMER-UQAR). 11/06/18
- Cortial G., Winkler G. (2017). Phylogeography and population genetics of the forage species *Neomysis americana* (Mysida). Regroupement scientifique annuel de Québec Océan à Rivière du Loup, Canada. 13-15/11/17

Affiches :

- Cortial G., Winkler G., Woodland R., Lasley-Rasher R. (2017). Genetic heterogeneity of the coastal forage species *Neomysis americana*. Société canadienne d'écologie et d'évolution à Victoria, Canada. 07-11/03/17
- Cortial G., Winkler G. (2016). Deux espèces en une : Existence d'un complexe d'espèces cryptiques révélée chez *Neomysis americana* dans le système Saint-Laurent. Réunion scientifique annuelle de Québec Océan à Rimouski, Canada (Prix de la deuxième meilleure affiche). 08-09/11/16

PHYLOGEOGRAPHY OF THE FORAGE SPECIES *NEOMYSIS AMERICANA* (MYSIDA)

Grégoire Cortial¹, Ryan Woodland², Rachel Lasley-Rasher³, Gesche Winkler¹

¹ Institut des Sciences de la Mer de Rimouski, Québec-Océan, Université du Québec à Rimouski, 310 allée des Ursulines, Rimouski, Québec, G5L 3A1, Canada.

² Chesapeake Biological Laboratory, University of Maryland Center for Environmental Science, 146 Williams Street, Solomons, Maryland, 20688, U.S.A.

³ Department of Biological Sciences, University of Southern Maine, Portland, Maine, 04103, U.S.A.

1.2 INTRODUCTION

The contemporary genetic structure of species is a reflection of historical and current pressures on dispersal (i.e. the movement of individuals) and gene flow (i.e. the movement of genes) which both shaped species' present-day distributions (Avise, 2000; Hewitt, 2000; Garant *et al.*, 2007). These forces act on two different time and spatial scales, and can act synergistically. For example, species inhabiting the Cold Temperate Northwest Atlantic (CTNA) have undergone recurrent demographic and spatial modifications induced by multiple glacial-interglacial cycles (Hewitt, 2000; Wares, 2002; Spalding *et al.*, 2007). Thus, Pleistocene glaciations have been recognized as a driver of speciation and diversification processes on marine organisms (Reeb and Avise, 1990; Avise, 1992; Hewitt, 1996, 2000; Santos *et al.*, 2006; Norris and Hull, 2012). Glacial advances have restricted the distribution of many coastal species to isolated refugia (glacial refugia), strengthening speciation events driven by genetic drift (Hutchison and Templeton, 1999; Kawecki, 2008; Maggs *et al.*, 2008; Provan and Bennett, 2008). Widespread species inhabiting historical glaciated and non-glaciated regions have proven useful for understanding how dispersal limitation and vicariance events may have shaped their phylogeographic patterns (Hewitt, 2000; Wares and Cunningham, 2001; Marko, 2004). Several studies also revealed that such widespread organisms are characterized by high genetic divergence (Cassone and Boulding, 2006; Kelly *et al.*, 2006; Audzijonyte *et al.*, 2008; Teske *et al.*, 2011; Islam *et al.*, 2018). In marine

systems, larval dispersal potential has a strong influence on gene flow between populations which shape the genetic structure among and between populations and determine their geographical range (Bohonak, 1999; Vuilleumier and Perrin, 2010; Kelly and Palumbi, 2010). Furthermore, restricted gene flow between populations increases the effects of evolutionary forces, such as drift and selection which ultimately lead to an increase of population differentiation, the emergence of cryptic species complexes and ultimately to new species (Slatkin, 1987; Bohonak, 1999; Lenormand, 2002; Bickford *et al.*, 2007).

Cryptic species complexes (defined by very high phenotypic similarity but genetic differentiation) appears to be common across marine invertebrates (e.g. copepods, gammaridae, mollusks, crustaceans) and vertebrates (e.g. turtles, cetaceans, sharks, fishes) (Knowlton, 1993 and references therein). As they are often sympatric, they challenge the traditional view of species coexistence (Leibold and McPeeck, 2005; Smith, 2013). Several mechanisms have been highlighted to explain maintenance of diversity within a cryptic species complex. Cryptic species may differ in their reproductive biology (Lee, 2000), life history characteristics (Audzijonyte *et al.*, 2008), feeding behavior (Cabrol *et al.*, 2015; Derycke *et al.*, 2016), metabolism (Lee and Peterson, 2003), niche partitioning (Wellborn and Cothran, 2007; Favier and Winkler, 2014; Rastorgueff and Bianchimani, 2015; Scriven *et al.*, 2016) and habitat preferences based on temperature (Jorde *et al.*, 2015) and salinity (De Meester *et al.*, 2015). Therefore, both genetic processes and niche-based dynamics might shape species interaction in a metacommunity composed of cryptic species (Wellborn and Cothran, 2007; De Meester *et al.*, 2015; Scriven *et al.*, 2016). Consequently, the description of new species complexes may help to better understand population dynamics and ultimately ecosystem functioning.

Estuaries represent highly dynamic and productive environments characterized by strong abiotic gradients (temperature, salinity) and eco-physiological boundaries (Bilton *et al.*, 2002; McLusky and Elliott, 2004). Numerous phylogeographic studies have reported the presence and frequent occurrence of cryptic species among various taxa across estuaries worldwide (Dawson *et al.*, 2001; Wares and Cunningham, 2001; Teske *et al.*, 2011; Colgan,

2016) and more specifically within the CTNA (Wares, 2002; Kelly *et al.*, 2006; Stanley *et al.*, 2018). The CTNA displays a tremendous variety of shorelines characterized by shallow and deep bays, coastal lagoons and estuaries (Schmidt *et al.*, 2008). The St. Lawrence System (SLS) is not an exception. It experiences high and rapid variations of temperature and salinity which likely represent major physiological challenges that could shape the spatial distribution patterns of estuarine species (Vézina *et al.*, 1995; Wares, 2002; Galbraith *et al.*, 2014). Furthermore, several cryptic species complexes have already been observed such as the estuarine copepod, *Eurytemora affinis* (Winkler *et al.*, 2008) and the rainbow smelt *Osmerus mordax* (Bernatchez, 1997) within the St. Lawrence system which seems to promote post glacial secondary contact of congener species.

Species with wide geographic distributions usually occupy a variety of habitats, display large population sizes and have fast generation times (Winkler *et al.* 2008). Mysids are peracarid crustaceans that exhibit these characteristics (Mauchline 1980b). Moreover, the concept of movement in mysids is of interest because adults have been suggested to undergo seasonal migrations between estuaries and coastal shelf regions (Jumars 2012; Lasley-Rasher *et al.* 2015) but mysids lack a larval stage, which limits early life dispersal. Several studies revealed that species with direct development (implying no larvae dispersal) are useful as indicators of biogeographical history because their distributions tend to reflect historical processes better than species with high dispersal capacities (Bohonak, 1999; Hellberg *et al.*, 2002; Jacobs *et al.*, 2004; Zickovich and Bohonak, 2007). Further, mysids exhibit strong intraspecific genetic diversity across their distribution ranges (Cristescu and Hebert, 2005; Audzijonyte and Vainola, 2006; Audzijonyte *et al.*, 2006; Remerie *et al.*, 2006; Remerie *et al.*, 2009; Chevaldonne *et al.*, 2015; Rastorgueff and Bianchimani, 2015). *Neomysis americana* display high thermal and salinity tolerance (eurythermal and euryhaline species) which contribute to its wide distribution throughout ten distinct biogeographic ecoregions within the CTNA (Whiteley, 1948; Tattersall, 1951; Hulburt, 1957; Hopkins, 1965; Mauchline, 1980; Maurer and Wigley, 1982; Pezzack and Corey, 1979, 1982; Laprise and Dodson, 1994; Heard *et al.*, 2006; Favier and Winkler., 2014; Johnson, 2015, 2016; Mayor *et al.*, 2017; Paul and Calliari, 2017). These ecoregions are strongly cohesive units mainly

delimited by distinct species composition, thermal discontinuities and hydrodynamic forces (Spalding *et al.*, 2007), so that we would expect genetic structure to occur in *N. americana*. Furthermore, *N. americana* has been reported as the most common species of *Neomysis* (genus), showing high abundance within regions characterized by high concentrations of phytoplankton such as the estuarine transition zone of the St. Lawrence system (Winkler *et al.*, 2003, 2007; Lapierre and Frenette, 2008, Bouchard, 2016). As opportunistic omnivorous, they also play a fundamental role in aquatic food webs as a consumer of microbenthos (diatoms, rotifers), detritus and copepods (Fulton, 1982, 1983; Winkler *et al.* 2003, 2007; Jumars, 2007) and in turn as prey to fish of many species (Lecomte and Dodson, 2004; Buchheister and Latour, 2015, Lasley-Racher *et al.*, 2015). Thus, they contribute to the transfer of energy between primary producers and higher trophic levels. Despite the wide distribution and ecological importance of *Neomysis americana*, information on this species are scarce and limited to distribution patterns, seasonal population dynamics and reproduction. However, no investigation has been carried out on its genetic population structure within its native distribution range. Hence, this species provides an interesting model to investigate intraspecific genetic variations and phylogeographic patterns under low dispersal capacity (brooding behavior and lack of free-living larvae).

This study aimed to analyse the population genetic structure of the widely distributed *Neomysis americana* among four distinct ecoregions within the CTNA (from the Chesapeake Bay to St. Lawrence estuarine transition zone) with particular emphasis on the SLS, which hosts two putative sympatric cryptic lineages (Radulovici *et al.*, 2009). Due to the broad distribution of *N. americana* and assuming low dispersal capacity, strongly differentiated genetic structure is expected among these ecoregions. In the present study, phylogeographic patterns and genetic diversity were examined at different spatial scales, i.e., at a macro-geographic scale along the coast of the northwest Atlantic (> 1,000 km) and at meso-geographic scales among and within regions of the SLS (100 – 1000 km), using mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (mt-DNA COI). Time of population divergence, evolutionary and demographic history were assessed.

1.3 MATERIALS AND METHODS

1.3.1 SAMPLING

In the St. Lawrence System (SLS) 26 stations were sampled (Table 2; Fig 9) along the estuary and the western coast of the Gulf of St. Lawrence from May to September 2016. We sampled either by boat, using the “MACOMA” (ISMER-UQAR) or “MORADAX” (QUEBEC-OCEAN) or from shore (10 stations). Samples were collected with (1) a plankton net (1m diameter ring net, 243 μ m mesh), (2) a epi-benthic sledge with two plankton nets (dimension 50cm x 20cm, 500 μ m mesh) above the bottom by boat, or (3) a hand plankton net (50cm diameter, 250 μ m mesh) from shore. All samples were preserved in unbuffered 95% ethanol and kept at -20°C. Most of the sampling effort focussed on the St. Lawrence estuary as environmental conditions rapidly change at the mesoscale (10- 500km) permitting sampling of various habitats throughout the system. *Neomysis americana* individuals from two populations outside the SLS at Penobscot Bay (Gulf of Maine) and the Patuxent River (Chesapeake Bay) in the native distribution range of the species were collected using similar methods. Mysids were sampled with a plankton net (1m diameter ring net, 1000 μ m mesh) in the Penobscot Bay and with a surface-deployed 75cm diameter plankton net (280 μ m mesh) in the Patuxent River. Abiotic parameters (temperature and salinity) were measured 1 meter below the surface with an YSI professional hand probe, CTD (Seabird 19plus), or Manta+ 3.5 (Eureka, TX) at each station (Table 2).

Table 2: Locations sampled within the native geographic range of *Neomysis americana* populations. N represent the number of individual sequenced per site

[illegible]

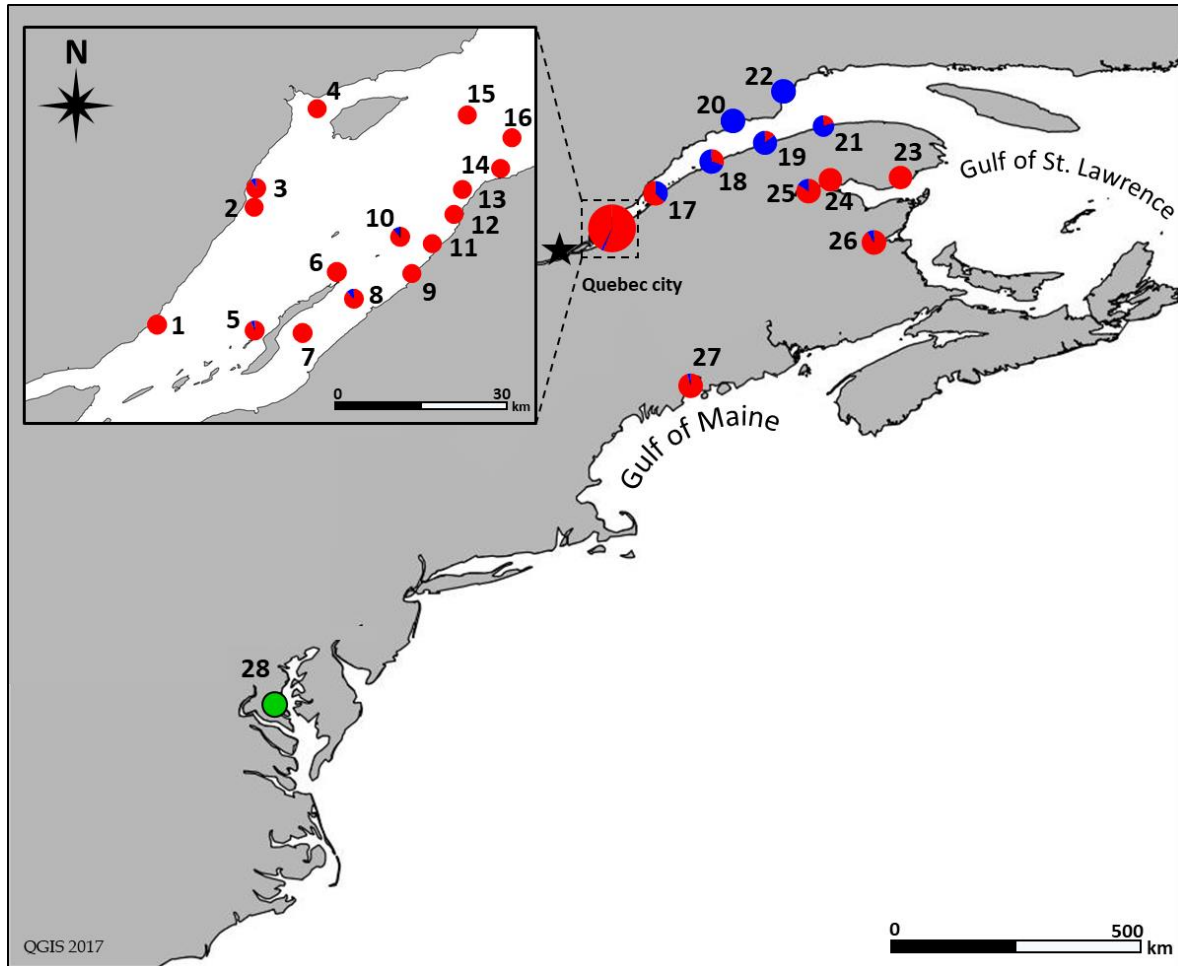


Figure 9: Geographic lineage distribution of *Neomysis americana* populations, based on 601 bp COI. Numbers indicate sampling sites (see Table 2). Red, blue and green colors represent haplotypes from the Atlantic lineage A, B and C, respectively

1.3.2 DNA SEQUENCING (EXTRACTION, AMPLIFICATION, SEQUENCING)

Neomysis americana were sorted and identified under a stereomicroscope using a taxonomic key (Smith 1873) before DNA extraction. DNA was extracted from 15 to 37 individuals per site, with the exception of nine sites where only 1 to 8 individuals were captured (Table 2). All individuals were rinsed with Tris-EDTA buffer ($\text{pH } 8.0 \pm 0.1$) to eliminate the ethanol from tissues prior to dissect a segment of ~5mm from the abdomen with

a scalpel. The remaining tissue fragments were preserved in 95% ethanol for the majority of *N. americana* except for individuals smaller than 4mm which were extracted entirely. DNA was then extracted from the tissue using a cell-lysis buffer (ATL) with Proteinase-K according to the QIAGEN Quick-Start protocol modified by Eberl *et al.* (2007). The DNA concentration was estimated by measuring absorbance at 260 nm, the ratios of A260/280 and A260/230, were determined by spectrophotometry (NanoVue, Healthcare Bio-Science AB 4282 V1.7.3 version, Sweden) to determine the quality of DNA extraction. The primers pairs LCOI1490/HCOI2198 (Folmer *et al.* 1994) were used to amplify the mitochondrial gene cytochrome c oxidase subunit I (COI), using a modified PCR-protocol according to Lee (2000) on a thermal cycler (Brinkmann Instruments, Inc., Eppendorf AG 22331 Hamburg). PCR amplifications were performed in a 25 µl reaction volume, which contained 1 µl of template DNA (10-180 ng), 23.8 µl of Mix (final concentrations: 1x of IBI reaction Buffer; 2.5 mM of IBI MgCL₂; 0.2 µM of dNTP; 13.9 µl of nano-pure water; 0.5 µM IDT primers (LCOI Forward : 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' and HCOI Reverse : 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3')) and 0.2 µL of Taq polymerase (IBI). Amplification cycles consisted of a pre-denaturation step at 95°C for 120 s, 6 cycles of denaturation at 90°C for 30 s, primer annealing at 45°C for 30 s, extension at 72°C for 90 s, 28 cycles of denaturation at 90°C for 30 s, primer annealing at 55°C for 45 s, extension at 72°C for 60 s, and final extension at 72°C for 300 s. PCR products were initially visualized on an ethidium bromide-stained 2% agarose-tris-borate-EDTA gel (7 µL of amplified products for 30 min at 120 V) under UV light (302nm wave length) and digitized (AlphaImager© HP, Alpha innotech Corp., 2005) before being sent to the “Plateforme de séquençage du Centre hospitalier de l’Université de Québec” (CHUQ) for purification and sequencing on an ABI 3130xl (or ABI 3710xl) DNA analyser (Applied Biosystems). To assure sequence quality, double strains products were sequenced in 5% of all individuals. A 601 bp fragment of the COI subunit was kept following quality control and sequence cleanup.

1.3.3 DATA ANALYSES

All sequences were aligned with Mega 7 using the ClustalW alignment method (Version 7; Kumar *et al.*, 2016). Mesquite software (Version 3.5) was used to search for stop codons in translated amino acid sequences (Maddison and Maddison, 2018). The translated amino acid sequences did not contain stop codons which suggests that the amplified fragments from the functional region of the mitochondrial COI and not a nuclear COI-like pseudogene (Buhay, 2009). All haplotypes were deposited in the BOLD database.

1.3.4 GENETIC HETEROGENEITY

Genetic diversity of *N. americana* populations was calculated for all sites using estimators implemented in DnaSP (Version 6.10.01; Rozas *et al.* 2017), including haplotype diversity (H_d , probability of dissimilarity of two haplotypes chosen randomly in the same location) and nucleotide diversity (π , mean number of differences between all pairs of haplotypes in the sample; see Arlequin Manual Version 3.5; Nei, 1987).

1.3.5 PHYLOGENETIC ANALYSES

The best fitting model (T92+G+I) based on maximum likelihood parameter estimates, was selected from the best Bayesian information criterion (BIC) implemented in MEGA (with gamma rate distribution “G” = 0.87 and assuming that a certain fraction of sites are evolutionarily invariable “I” = 0.67). To improve readability of the phylogenetic tree, phylogenetic reconstructions were conducted both on the complete data set (420 sequences) and on a consensus one containing two or three most frequent haplotypes by region. Phylogenetic reconstructions were performed using maximum-likelihood (ML), distance matrix (neighbor joining; NJ) and maximum parsimony (tree-bisection-reconnection (TBR)

model; MP) analyses under Tamura 3-parameter substitution model. To estimate statistical support for tree topology, 10,000 bootstrap replicates were performed for each approach. *Neomysis integer* was used as outgroup (Genbank accession number: AJ852567.1). Pairwise nucleotide differences matrix (uncorrected p-distance (pi)) between sequences was built in Mega 7.

A statistical parsimony haplotype network was constructed to show genetic relatedness among haplotypes of the 420 individuals of *N. americana* using the TCS statistical parsimony method (Templeton *et al.*, 1992) implemented in the software Popart (version 1.7; Clement *et al.*, 2002; Leigh and Bryant, 2015).

1.3.6 ANALYSE OF MOLECULAR COVARIANCE

We performed analyses of molecular covariance (AMOVA) to determine the hierarchical distribution of genetic structure (ARLEQUIN version 3.5.2) at two different scales: i) between lineages, ii) between regions all lineages included and iii) between regions within the lineage A. Regions were included when at least haplotypes of 6 individuals were available. Hence, the lineage B and C were removed from the regional AMOVA lineage analyses because of their limited numbers of individuals sampled throughout all regions.

In order to measure the genetic subdivision of natural *N. americana* populations at the large and meso-scale throughout their native distribution range, analyses of pairwise fixation indices (Φ_{ST}) among populations were conducted using ARLEQUIN (Version 3.5.2). Mitochondrial DNA (mt-DNA) haplotypes were treated as allelic data at a single locus (Excoffier *et al.* 2005). Φ_{ST} analyses were performed between populations at two scales: i) between regions with all lineages included, ii) between lineages and finally iii) between regions within the lineage A. Significance was tested by bootstrapping using 10,000 permutations (Excoffier *et al.* 2005). The Raymond and Rousset (1995) exact test of

population differentiation was used to test for the null hypothesis (H_0 of no differentiation among populations based on haplotypes).

1.3.7 DEMOGRAPHIC INFERENCE

Regions containing at least fifteen individuals of the studied lineages were included in demographic analyses. Several alternative methods were used to examine the historical demography of *N. americana*. Prior to estimating divergence times, the hypothesis of deviations from the Wright–Fisher neutral model (W&F model; Fu’s F_s , Fu and Li’s F , Fu and Li’s D^* , and Tajimas’s D indices) were tested, using DnaSP (version 6.10.01; Rozas *et al.*, 2017). Significant deviation from the neutral Wright-Fisher model indicates that population demographic expansion occurred in the past. To test the validity of the sudden expansion model, we performed a goodness of fit test (P) using a parametric bootstrap approach implemented in Arlequin. These methods compare the observed mismatch distributions to the expected mismatch distributions by using a generalized least-square approach (SSD; Schneider and Excoffier 1999). Several Wright-Fisher indices differed from neutral model and SSD p-values were not significant (significant p-values would reject the sudden expansion model) for all lineages. Therefore, the times since demographic population expansion event (t) were estimated using pairwise haplotype mismatch analyses implemented in the DnaSP (version 6.10.01) and the Arlequin software (version 3.5.2, Excoffier *et al.* 2005; Rozas *et al.* 2017).

The following equations were used to estimate t :

$$t \text{ (years)} = \frac{\tau}{2\mu} \times \frac{1}{g} \quad \text{eq. (1)}$$

(τ = time to the expansion in generation, μ = mutation rate per generation and g = number of generation. year^{-1})

and

$$\mu = \text{Fragment length} \times \text{crustacean COI mutation rate} \cdot 10^{-6} \times \frac{1}{g} \quad \text{eq. (2)}$$

with Fragment length (bp) = 601bp, crustacean COI mutation rate = $\frac{1.4\%^*}{\text{Ploidy}} = 0.7\%$ million. years^{-1} and $g = 3$ generation. year^{-1} defined by Bouchard (Bouchard, 2016).

As no mt-COI mutation rate has been reported for mysids, a range of mutation rates (1.4-2.33% million years $^{-1}$) have been widely used for marine crustaceans (Schubart C., 1998; Remerie *et al.*, 2006; Winkler *et al.*, 2008; Ren *et al.*, 2016; Cheng and Sha, 2017). A mutation rate of 1.4% per million years based on rates of COI sequence divergence in snapping shrimps (Knowlton and Weigt, 1998) was applied. As Knowlton and Weigt (1998) established this mutation rate on diploid data, the rate has been halved (0.7% million years $^{-1}$) in order to be congruent with our dataset (haploid).

1.4 RESULTS

1.4.1 *N. AMERICANA* GENETIC DIVERSITY AND LINEAGE DISTRIBUTION

In total, 446 individuals were sequenced. After sequence quality control, 420 individuals with a sequence of at least 601 base-pairs were further analysed. Overall, 109 polymorphic sites were detected over the entire nucleotide alignment (18.1%). *Neomysis americana* showed overall high haplotype diversity ($H_d = 0.91$) and mean regional values ranged from 0.68 (Gulf of St. Lawrence; GSL) to 0.98 (Chesapeake Bay; CB) (Table 3). Haplotype and nucleotide diversity were higher in the Penobscot Bay (PB) and (CB) compared to the Estuary and Gulf of St. Lawrence. However, those indices were likely overestimated and less representative because of lower numbers of individuals sampled in those regions ($n = 23$ in PB, $n = 37$ in CB). In contrast, the overall nucleotide diversity (π) was low ($\pi = 0.094$), with regional values ranging from 0.002 in the ETZ to 0.105 in the CB (Table 3). A total of 156 distinct haplotypes were detected in 420 individuals. The two most frequent haplotypes were shared by 117 and 49 individuals and were found in 82% and 61% of all sampling sites, respectively. Furthermore, 76% of haplotypes were singletons.

Table 3 : Genetic diversity of populations and lineages of *Neomysis americana* using 601 bp of COI-gene

Population Region Site	Lineage				No. of polymorphic sites (V)	No. of haplotypes / Private haplotypes (H / PH)	Haplotype diversity (Hd) \pm SE	Nucleotide diversity (π) \pm SE	Average number of nucleotide differences per sites (K) \pm SE
	N	A	B	C					
Estuarine Transition Zone	252	248	4	-	79	88 / 60	0.85 \pm 0.02	0.002 \pm 0.001	2.31 \pm 1.27
1	24	24	-	-	14	11 / 4	0.78 \pm 0.07	0.003 \pm 0.002	1.67 \pm 1.01
2	16	16	-	-	6	6 / 3	0.72 \pm 0.10	0.002 \pm 0.001	1.13 \pm 0.77
3	16	15	1	-	28	9 / 1	0.87 \pm 0.07	0.007 \pm 0.004	4.05 \pm 2.13
4	25	25	-	-	25	19 / 11	0.97 \pm 0.02	0.004 \pm 0.003	2.54 \pm 1.41
5	24	23	1	-	27	11 / 2	0.83 \pm 0.06	0.005 \pm 0.003	3.26 \pm 1.74
6	24	24	-	-	14	12 / 7	0.83 \pm 0.06	0.003 \pm 0.002	1.68 \pm 1.02
7	16	16	-	-	13	12 / 7	0.92 \pm 0.06	0.004 \pm 0.002	2.16 \pm 1.26
8	15	14	1	-	23	9 / 5	0.86 \pm 0.08	0.006 \pm 0.004	3.73 \pm 1.99
9	16	16	-	-	11	10 / 5	0.83 \pm 0.10	0.003 \pm 0.002	1.58 \pm 0.99
10	16	15	1	-	26	11 / 2	0.93 \pm 0.05	0.007 \pm 0.004	4.02 \pm 2.13
11	18	18	-	-	9	9 / 3	0.80 \pm 0.09	0.002 \pm 0.002	1.35 \pm 0.88
12	4	4	-	-	4	3 / 2	0.83 \pm 0.22	0.003 \pm 0.003	2.00 \pm 1.41
13	3	3	-	-	1	2 / 1	0.67 \pm 0.31	0.001 \pm 0.001	0.67 \pm 0.67
14	16	16	-	-	11	8 / 4	0.81 \pm 0.09	0.003 \pm 0.002	1.97 \pm 1.17
15	6	6	-	-	4	5 / 2	0.93 \pm 0.12	0.003 \pm 0.002	1.53 \pm 1.06
16	13	13	-	-	5	6 / 1	0.79 \pm 0.09	0.002 \pm 0.001	1.15 \pm 0.80
St. Lawrence Estuary	76	27	49	-	43	31 / 15	0.93 \pm 0.01	0.019 \pm 0.009	11.50 \pm 5.27
17	24	14	10	-	33	15 / 4	0.95 \pm 0.03	0.020 \pm 0.010	11.94 \pm 5.60
18	21	7	14	-	26	9 / 4	0.85 \pm 0.05	0.019 \pm 0.010	11.18 \pm 5.29
19	23	4	19	-	32	13 / 5	0.93 \pm 0.03	0.015 \pm 0.008	8.69 \pm 4.16
20	1	-	1	-	23	1 / 1	-	-	-
21	6	2	4	-	26	5 / 1	0.93 \pm 0.12	0.022 \pm 0.014	13.40 \pm 7.04
22	1	-	1	-	21	1 / -	-	-	-
Gulf of St. Lawrence	32	30	2	-	26	11 / 3	0.68 \pm 0.09	0.032 \pm 0.019	3.43 \pm 1.80
23	2	2	-	-	0	1 / -	-	-	-
24	1	1	-	-	0	1 / -	-	-	-
25	8	7	1	-	24	4 / 1	0.64 \pm 0.18	0.010 \pm 0.006	6.00 \pm 3.20
26	21	20	1	-	24	8 / 2	0.76 \pm 0.09	0.005 \pm 0.003	3.07 \pm 1.66
Penobscot Bay	27	23	22	1	33	17 / 15	0.95 \pm 0.03	0.044 \pm 0.025	4.66 \pm 2.37
Chesapeake Bay	28	37	-	-	37	29 / 24	0.98 \pm 0.01	0.105 \pm 0.061	3.46 \pm 1.81
Lineage A	327				75	107 / 87	0.85 \pm 0.02	0.018 \pm 0.012	1.98 \pm 1.12
Lineage B	56				21	20 / 14	0.89 \pm 0.03	0.024 \pm 0.015	2.57 \pm 1.40
Lineage C	37				33	29 / 25	0.98 \pm 0.01	0.105 \pm 0.061	3.46 \pm 1.81
Overall	420				109	156 / 126	0.91 \pm 0.01	0.094 \pm 0.048	10.26 \pm 4.69

At the large spatial scale throughout the native distribution range from the St. Lawrence Estuary to Chesapeake Bay, geographic structure of the COI-gene of *Neomysis americana* was revealed. The genetic variance among regions was about 70% suggesting a strong genetic subdivision between regions (Table 4a).

Table 4 : Analysis of molecular variance (AMOVA, Excoffier *et al.* 2005) of COI sequences of *Neomysis americana* (a) among and within lineages, (b) among and within regions without lineage distinction, (c-f) among and within regions within lineage A. Φ_{CT} is defined as the variance among groups divided by total variance ($\Phi_{CT} = \Phi_a^2 / \Phi_T^2$), Φ_{SC} is the variance among populations divided by the variance among and within populations ($\Phi_{SC} = \Phi_b^2 / (\Phi_b^2 + \Phi_c^2)$) and Φ_{ST} is the variance among groups and among populations divided by total variance ($\Phi_{ST} = (\Phi_a^2 + \Phi_b^2) / \Phi_T^2$; Excoffier *et al.* 2005). Sites with $N \leq 5$ were removed from analyses. ETZ refers to the Estuarine Transition Zone of the St. Lawrence Estuary, SLE to the lower St. Lawrence Estuary, GSL to the Gulf of the St. Lawrence, PB to the Penobscot Bay and CB to the Chesapeake Bay

Source of variation	DF	Covariance	%Total	Fixation indices	P value
Analyses among regions					
(a) ETZ vs. SLE vs. GSL vs. PB vs. CB					
Between regions (σ^2_a)	4	5.04	69.6	Φ_{CT} 0.70	< 0.0001
Among populations within regions (σ^2_b)	17	0.10	1.4	Φ_{SC} 0.05	< 0.05
Within populations (σ^2_c)	386	2.10	29	Φ_{ST} 0.71	< 0.0001
Analyses among lineages					
(b) Lineage A vs. Lineage B vs. Lineage C					
Between lineages (σ^2_a)	2	10.95	90.6	Φ_{CT} 0.91	< 0.0001
Among populations within lineages (σ^2_b)	20	0.16	1.3	Φ_{SC} 0.14	< 0.0001
Within populations (σ^2_c)	368	0.98	8.1	Φ_{ST} 0.92	< 0.0001
Analyses among regions within lineage A					
(c) ETZ vs. SLE vs. GSL vs. PB					
Between regions (σ^2_a)	3	0.40	31.8	Φ_{CT} 0.32	< 0.0001
Among populations within regions (σ^2_b)	15	0.01	1.0	Φ_{SC} 0.02	< 0.01
Within populations (σ^2_c)	292	0.85	67.2	Φ_{ST} 0.33	< 0.0001
(d) ETZ (Sites 1-16) vs. SLE (Sites 17-22)					
Between regions (σ^2_a)	1	0.01	1.1	Φ_{CT} 0.01	< 0.01
Among populations within regions (σ^2_b)	14	0.02	1.8	Φ_{SC} 0.02	< 0.01
Within populations (σ^2_c)	246	0.83	97.1	Φ_{ST} 0.03	< 0.05
(e) ETZ + SLE (Sites 1-22) vs. GSL (Sites 23-26)					
Between regions (σ^2_a)	1	0.06	6.4	Φ_{CT} 0.06	< 0.01
Among populations within regions (σ^2_b)	16	0.02	2.0	Φ_{SC} 0.02	< 0.01
Within populations (σ^2_c)	271	0.80	91.6	Φ_{ST} 0.08	< 0.0001
(f) ETZ + SLE + GSL (Sites 1-26) vs. PB (Site 27)					
Between regions (σ^2_a)	1	1.09	55.5	Φ_{CT} 0.55	< 0.05
Among populations within regions (σ^2_b)	17	0.02	1.2	Φ_{SC} 0.03	< 0.0001
Within populations (σ^2_c)	292	0.85	43.3	Φ_{ST} 0.57	< 0.0001

The analyses of pairwise genetic distances (Φ_{ST}) between regions showed significant and restricted gene flow between each other (Table 5a). The CB population showed the highest Φ_{ST} values compared to other regions ($0.72 < \Phi_{ST} < 0.91$) and significant differences between these regions were also supported by the Raymond & Rousset exact test ($P < 0.001$). Those results highlight strong genetic partitioning at large scales between CB and the other regions.

Table 5: Pairwise genetic Φ_{ST} values (below diagonal) and results of exact permutation test differentiation (Raymond & Rousset 1995; 100,000 steps in Markov chain; above diagonal) a) among regions all lineages included and b) among regions within lineage A using 601 bp COI fragment. Data from sites 10, 13, 20, 22–24 were not included because of their low (N)

a) All lineages	ETZ	SLE	GSL	PB	CB
ETZ	-	< 0.001	0.326	< 0.001	< 0.001
SLE	0.646	-	< 0.001	< 0.001	< 0.001
GSL	0.064	0.419	-	< 0.001	< 0.001
PB	0.462	0.402	0.314	-	< 0.001
CB	0.905	0.721	0.866	0.860	-
b) Lineage A	ETZ	SLE	GSL	PB	
ETZ	-	0.835	0.371	< 0.001	
SLE	0.008 ^{n.s.}	-	< 0.01	< 0.001	
GSL	0.073	0.031	-	< 0.001	
PB	0.551	0.503	0.550	-	

In contrast, the GSL populations (Fig. 9 & 10) showed a small but significant Φ_{ST} (0.064) with the ETZ region (Table 5a), indicating a restricted gene flow. However, the Raymond & Rousset exact test did not detect a significant difference between those regions ($P = 0.326$), suggesting a lack of genetic differentiation within the SLS populations (Table 5a).

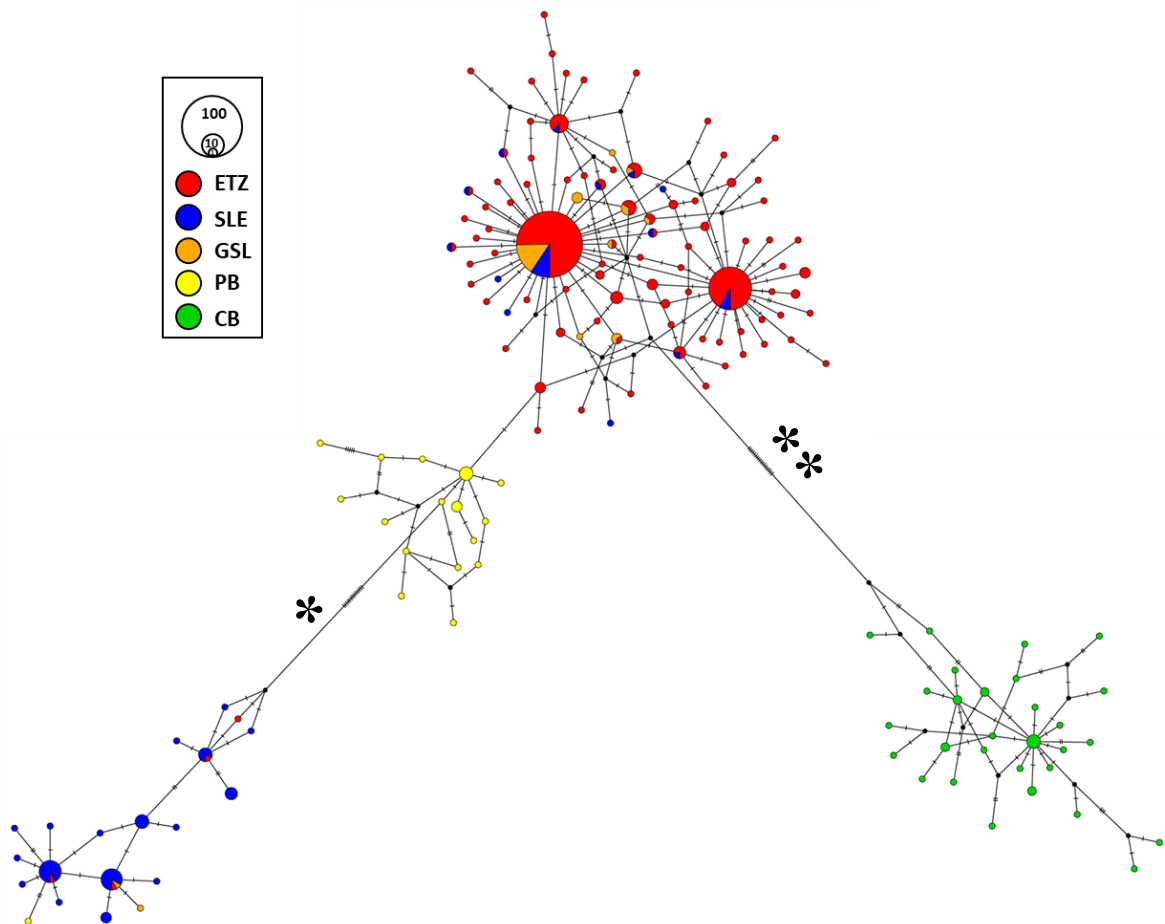


Figure 10 : Parsimony mt-DNA haplotype network for *Neomysis americana* using TCS model (10 000 iterations). Black circles represent missing node haplotypes. Colours indicate the haplotypes geographic regional origins. Dashes represent nucleotide mutation steps between two related haplotypes. Stars represent number of mutations (*14 mutations, **20 mutations) between the two nearest haplotypes of two different lineages.

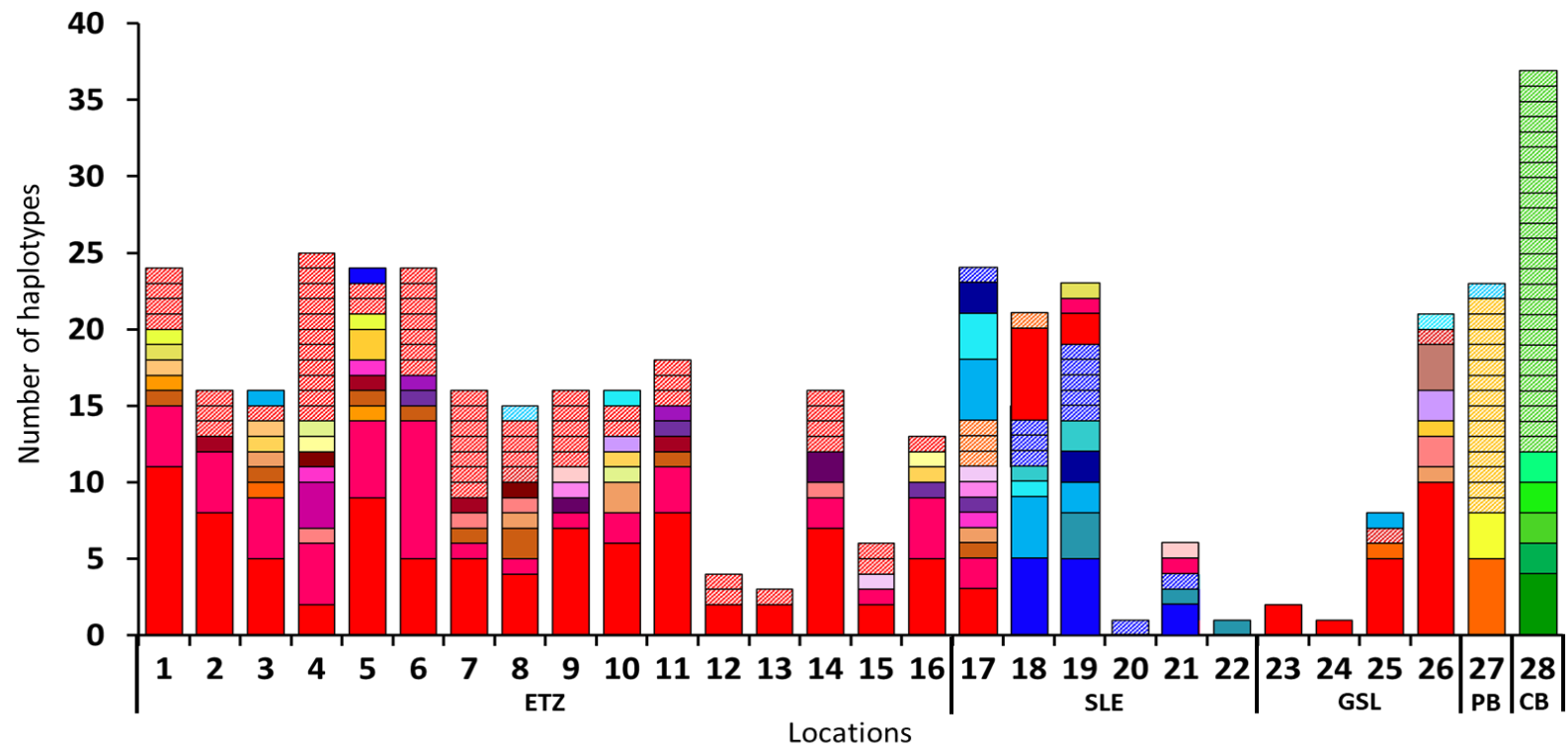


Figure 11: Haplotype distribution of *Neomysis americana* 601bp mt-COI fragment at each sampling location. Haplotypes from the Atlantic lineage A are in shade of red, orange, yellow brown and purple. Cool colors such as the gradation of blue and green represent the Atlantic lineages B and C, respectively. Fill patterns represent unique and private haplotypes for each lineage

Phylogenetic analyses revealed three different lineages within the *N. americana* complex throughout its distribution range (Fig. 12, Table 4b), namely the lineage A (**LA**, red color) and the lineage B (**LB**, blue color) and the lineage C (**Lc**, green color) (Fig. 9). Inter-lineage divergence, based on uncorrected p-distance (p_i), was 3.7%, 4.5% and 5.6% between the lineages A - B, the lineages A - C and the lineages B - C, respectively. Most of the genetic variance (90.6%) was distributed among these lineages and only small proportions of the covariance were found among populations within lineages and within populations (AMOVA, Table 4b). The three lineages were separated by at least fourteen missing haplotypes in the parsimony haplotype network (Fig. 10). The shape of the haplotype network for the lineage A in the St. Lawrence system was star-like, centered around the two most frequent haplotypes, including a sub-cluster of haplotypes exclusively found in Penobscot Bay. In contrast to the **LA**, the haplotype network of the **LB** and **Lc** were more dispersed. The **LA** was surrounded by the lineage B and C, so that the relative position of those lineages to each other within the haplotype network did not reflect their contemporaneous geographic position (Fig. 10).

Geographic segregation of *N. americana* lineages occurred throughout the native distribution range. Sympatric occurrence of the lineage A and B were found in the estuarine transition zone, the lower St. Lawrence Estuary, the Gulf of St. Lawrence and the Penobscot Bay. The lineage A was predominantly in the ETZ, the GSL and the PB, whereas the lineage B dominated the lower St. Lawrence estuary. Both lineages were absent from Chesapeake Bay, where only *N. americana* of the lineage C occurred (Fig. 9, 10 & 11). The most frequent haplotype of the lineage A was present at all stations of the ETZ and the GSL as well as at three stations in the SLE (Fig. 10 & 11). However, Penobscot Bay haplotypes from the lineage A were not shared with other regions. The two most frequent haplotypes of the lineage B were predominant in the SLE and were found in very low proportions in the ETZ and GSL. Furthermore, the only haplotype of the lineage B found in PB was a singleton, two mutations apart from the most frequent haplotype of the lineage A (Fig. 10).

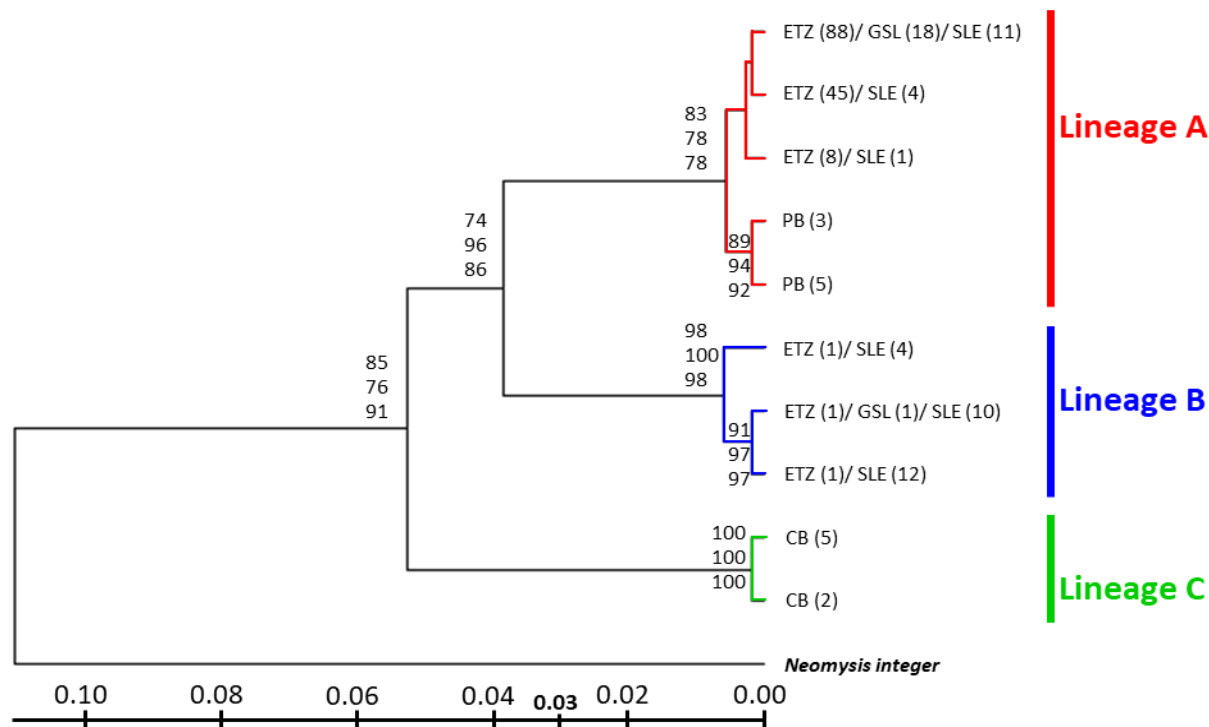


Figure 12: Phylogeny of the *Neomysis americana* species complex using a 601 bp fragment of the cytochrome c oxidase I gene. The phylogeny shown was constructed using the Bayesian approach (see Materials and methods). Scale bar corresponds to pairwise percentage differentiation between two haplotypes. Numbers next to nodes are bootstrap values for major nodes based on 10,000 bootstrap replicates using parsimony (upper number), distance (middle number) and maximum-likelihood (lower number) reconstructions models. Numbers in brackets indicate the number of individuals sharing this haplotype. Colors represent distinct lineages (> 3% bp differences). *Neomysis integer* 601bp mt-COI sequence was used as an outgroup (GenBank: AJ852567.1)

1.4.2 HIERARCHICAL PATTERNS OF GENETIC SUBDIVISION OF THE LINEAGE A

Within the distribution range of the lineage A, large scale regional variation was revealed, as 32% of the molecular covariance was found between regions (AMOVA, Table 4c). Hierarchical AMOVAs revealed increasing molecular covariance between regions by combining neighboring regions one by one (from ETZ to the GSL, Table 4d, e, f). The highest genetic variation was distributed between regions (55.5%) when comparing the PB regions (Site 27) with all St. Lawrence regions combined (ETZ, SLE and GSL, Sites 1-26). This result was supported by significant regional pairwise fixation indices suggesting significant genetic differentiation between the St. Lawrence system (ETZ, SLE and GSL) and Penobscot Bay regions ($\Phi_{ST} > 0.50$; $P < 0.001$, Table 5b). The populations of the Gulf of St. Lawrence showed low but not significant Φ_{ST} values with the ETZ and the SLE ($\Phi_{ST} = 0.07$ and $\Phi_{ST} = 0.03$, respectively, $P < 0.001$; Table 5b) suggesting some degree of restricted gene flow. This was further supported by the significant Raymond and Rousset exact test between the GSL and the SLE, however differentiation was not significant for the GSL and the ETZ (Table 5b). The lack of genetic differentiation between the ETZ and SLE populations, revealed by very low and nonsignificant Φ_{ST} ($\Phi_{ST} = 0.008$) and Raymond and Rousset ($P = 0.835$; Table 5b), suggested homogenous genetic structure throughout the entire St. Lawrence estuary including the ETZ. Therefore, both regions were pooled together for further demographic analyses.

1.4.3 DEMOGRAPHIC HISTORY

Regional populations from all lineages showed evidences of expansion events. At the regional scale, the lineage A populations of the combined ETZ and SLE regions and the GSL population showed significant deviation from the neutral Wright-Fisher model ($P < 0.05$; Table 6).

Table 6 : Statistical tests of deviation from the standard Wright–Fisher neutral model, used to test for population growth. Sites are in parentheses. Tests were performed with 1000 permutations. ^{n.s.}, not significant, $P > 0.05$

Lineage	Region	Sites	Fu's F_S	Fu and Li's F^*	Fu and Li's D^*	Tajima's D
Lineage A	Estuarine transition zone + St. Lawrence estuary	(1-22)	-171.183	-5.903	-7.001	-2.543
	Gulf of St. Lawrence	(23-26)	-2.546	-3.877	-4.067	-2.325
	Penobscot Bay	(27)	-11.355	-1.097 ^{n.s.}	-0.950 ^{n.s.}	-1.149 ^{n.s.}
Lineage B	St. Lawrence estuary	(17-22)	-7.752	-2.463	-2.744	-1.177 ^{n.s.}
Lineage C	Chesapeake Bay	(28)	-26.072	-2.704	-2.392 ^{n.s.}	-1.973

Furthermore, those regions displayed unimodal mismatch distributions which did not deviate (sum of squared deviation; $P > 0.05$) from the predicted distributions by the growth expansion model (Fig. 13a-b). Finally, the goodness-of-fit test p-values ($P > 0.05$) supported sudden demographic expansions events of both populations (Table 6). Given the assumptions of the mutation rate and generation time of *N. americana* (see Materials & Methods), the onset of rapid population demographic expansion of *N. americana* populations in these regions took place between 118,000 and 200,000 years before present (ETZ_A + SLE_A, $\tau = 1.687$, GSL_A $\tau = 1.000$; Table 7). In contrast, the PB population showed a bimodal mismatch distribution which differed significantly from the growth expansion model (PB_A, $P < 0.001$; Table 7, Fig. 13c) and three of four statistical tests did not differ significantly from the Wright-Fisher neutral model (Table 6) suggesting a population at equilibrium.

Table 7: Population genetic parameters estimated by pairwise haplotype mismatch analysis under a sudden expansion model (Schneider and Excoffier, 1999). Timing of population expansion were calculated, assuming three generations per year and a mutation rate of 0.7% million.years⁻¹

Populations	Lineage A			Lineage B	Lineage C
	Estuarine transition zone + St. Lawrence estuary (Sites 1-22)	Gulf of St. Lawrence (Sites 23-26)	Penobscot Bay (Site 27)	St. Lawrence estuary (Sites 17-22)	Chesapeake Bay (Site 28)
Number of individuals	275	30	22	49	37
τ	1.687	1.000	2.750	1.087	2.875
$P_{(Sim. SSD \geq Obs SSD)^*}$	0.100	0.200	< 0.001	0.407	0.825
Timing of population expansion (years BP)	2.00×10^5	1.18×10^5	3.27×10^5	1.29×10^5	3.42×10^5
CI 5%	1.71×10^5	0.00×10^5	3.11×10^5	0.88×10^5	2.42×10^5
CI 95%	2.20×10^5	3.57×10^5	3.72×10^5	9.29×10^5	5.60×10^5

*Significance from a goodness-of-fit test of a sudden-expansion model, where a small P value would reject the model.

The lineage B populations mismatch distribution pattern was not clearly unimodal (Fig. 13d). Despite this, only one statistical test (Tajima's D) did not deviate significantly from the Wright-Fisher neutral model (Table 6). Furthermore, these populations did not differ significantly from a sudden demographic expansion model ($SLE_B P > 0.05$; Table 7). The expansion event might have occurred at the same time as in the GSL_A population ($SLE_B, \tau = 1.087$; Table 7). Finally, the lineage C population showed similar unimodal patterns as the St. Lawrence A lineage populations ($ETZ_A + SLE_A$ and GSL_A ; Fig. 13e). However, one statistical test (Fu and Li's D^*) did not differ significantly from Wright-Fisher neutral model (Table 6). Despite this, the model of a sudden demographic expansion should not be rejected ($CB_C, P > 0.05$; Table 7) and might have occurred 342,000 years before present.

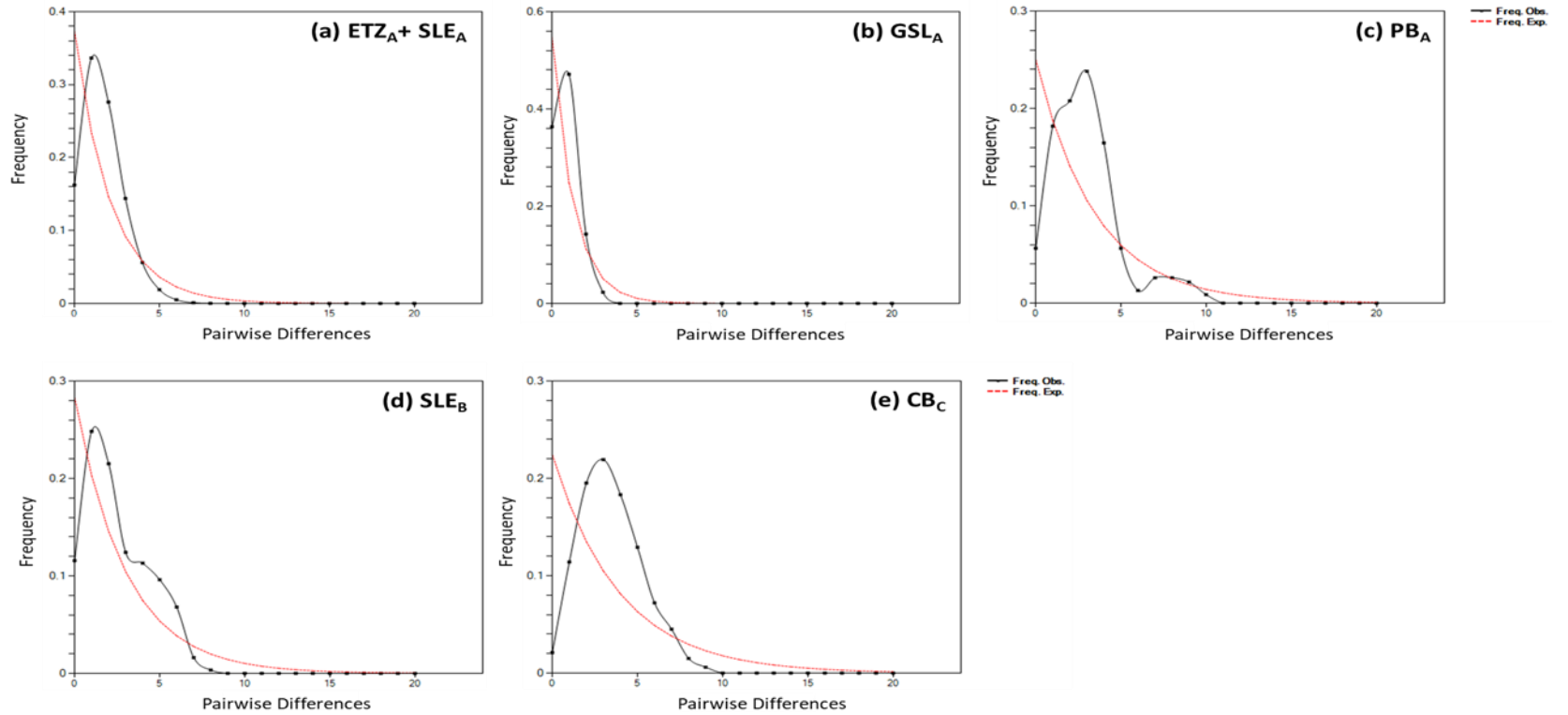


Figure 13 : Pairwise haplotype mismatch distributions of populations of *Neomysis americana*. The red dashed lines represent the expected pairwise mismatch distribution under a Wright–Fisher model, while the solid lines represent the observed frequencies. Graphics (a-c) represent populations within the lineage A from a) the combination of the estuarine transition zone (ETZ_A : sites 1-16) and the lower St. Lawrence estuary (SLE_A : sites 17-22), b) the Gulf of St. Lawrence (GSL_A : sites 22-26), c) the Penobscot Bay (PB_A : site 27) regions. Graphics (d) represent the lineage B populations from the St. Lawrence estuary (SLE_B : sites 17-21) and (e) represent the lineage C from the Chesapeake Bay (CB_C : site 28)

1.5 DISCUSSION

1.5.1 GENETIC DIVERSITY AND GEOGRAPHIC PATTERNS IN THE COLD TEMPERATE NORTHWEST ATLANTIC (CTNA)

Population genetic analyses of *N. americana* throughout its distribution range in the Northwest Atlantic revealed a high degree of haplotypic diversity and important geographic structure. These results echo other studies that showed clear phylogeographic structure among several species of crustaceans (e.g. *Ampithoe longimana*, *Eurytemora affinis*, *Geukensia demissa*, *Pagurus longicarpus*), bivalves (e.g. *Arctica islandica*, *Mercenaria mercenaria*) and teleostei (e.g. *Fundulus heteroclitus*, *Acipenser oxyrinchus*) along the northwest Atlantic (Wares, 2002; Maggs *et al.*, 2008; Diaz-Ferguson *et al.*, 2010). All sites with $N > 10$ showed high levels of haplotypic diversity (H_d 0.72-0.98; Table 3) and low nucleotide diversity which is congruent with genetic diversity in other mysid species, such as *Hemimysis margalefi*, *Hemimysis speluncola*, *Mesopodopsis slabberi* or its congener *Neomysis integer* (Lejeune and Chevaldonné, 2006; Remerie *et al.*, 2006; Remerie *et al.*, 2009). Three divergent mt-DNA lineages (p-divergence: 3.7-5.6%) were identified from the SLS to CB, with high geographic genetic heterogeneity between regions (AMOVA, Table 4a) also supported by the haplotype network (Fig. 10 & 12). These results strengthen and extend the genetic evidence that *N. americana* is composed of a cryptic species complex as has been suggested by Radoluvici *et al.* (2009). Lineages A and B were distributed in the St. Lawrence system and Penobscot Bay, whereas the new third lineage C occurred solely in Chesapeake Bay suggesting that a phylogeographic break may exist somewhere between Chesapeake Bay and Penobscot Bay and potentially around Cape Cod as observed for several marine species (Wares, 2002; Haney *et al.*, 2007; Kelly *et al.*, 2006). A second phylogeographic break may exist between the Gulf of St. Lawrence and the Gulf of Maine, as the Penobscot Bay population did not share a single haplotype with populations of the St. Lawrence system, resulting in a substructure within the lineage A. Moreover, the geographical patterns of most of these genetic clusters (lineages) were fairly congruent with

those delimiting the biogeographic marine ecoregions stated by Spalding *et al.* (2007). However, an inconsistency was observed within the St. Lawrence ecoregion where two distinct lineages (lineage A and B) displayed sympatric occurrence. This pattern might be due to a more complex environmental structure of the St. Lawrence system.

Limited dispersal among these regions might be a potential explanation for the patterns observed at large scales (Table 5a). Indeed, *N. americana* is known to undertake migrations over small and medium geographic scales such as diel vertical and tidal migrations as well as seasonal migrations between estuaries and coastal shelf regions (Herman, 1963; Jumars, 2012; Lasley-Rasher *et al.*, 2015). However, nothing is known about its dispersal capacities over large scales, between adjoining estuaries or over larger geographic distances between ecoregions. Due to its life-history traits of direct development and brooding behavior, wide-range dispersal might be reduced and rely solely on passive (e.g. advection by ocean currents) and active (migration) transport of juveniles and adults. Therefore, large distances between populations may limit gene flow. While onshore migrations have been suggested in some regions (Jumars, 2012; Lasley-Rasher *et al.*, 2015), northward migration of shallow water organisms along the southern Middle Atlantic Bights (MAB, from the Chesapeake Bay to the Penobscot Bay) might be limited by the southward current along the east coast originating off the Scotian Shelf (Bumpus, 1973; Mayer *et al.*, 1979; Drinkwater and Gilbert, 2004; Urrego-Blanco and Sheng, 2014). Moreover, the influence of the strong south-westward buoyancy-driven flow has been described as a major forcing agent driving the transport of invertebrate larvae (e.g. blue crabs) spawned on the continental shelf in the MAB (Epifanio and Garvine, 2001). Likewise, the significant restricted gene flow between populations in the Penobscot Bay and the St. Lawrence system resulting in a potential genetic break between the Gulf of Maine and the Gulf of St. Lawrence might also be enhanced by the same southward current along the coast of Nova Scotia which may prevent gene flow with Northern and St. Lawrence populations and thus contributing to isolate the Penobscot Bay from the other regions. The mouth of the Bay is also recognized as the biogeographic limit of northward dispersal of several shallow water species (Pappalardo *et al.*, 2015). Several genetic studies within the Bay of Fundy and the Gulf of

Maine highlight the influence of regional hydrodynamic forces as probable barriers to gene flow (Einfeldt and Addison, 2013; Einfeldt *et al.*, 2014; Einfeldt *et al.*, 2017), with the gyre of Fundy appearing to provide an active boundary to the dispersion and migration of low and high dispersal organisms within the bay. On the other hand, common haplotypes of the lineage A and B from the St. Lawrence system would have been expected to occur in the Penobscot according to the southward coastal stream flowing from the Grand Banks of Newfoundland to Cape Cod. Despite our limited sampling locations between the Penobscot Bay and the St. Lawrence system, we argue that barriers such as the southward Nova Scotia current, local currents (gyre of Fundy), coastal topography (strait of Cabot as the only southern connection to the north Atlantic and the Gulf of Maine) as well as differences in the abiotic environment (such as temperature and salinity regimes) within the SLS, the Bay of Fundy and the Gulf of Maine may ultimately prevent the dispersion of juveniles and adults resulting in significant restricted gene flow. In theory, environmental gradients and boundaries to gene flow can both act to influence the location and existence of such phylogeographic transition zones (Bierne *et al.*, 2011; Einfeldt *et al.*, 2017). Moreover, a recent multi-species review revealed an unidentified biogeographic break along Nova Scotia associated with striking climatic gradients driven by seasonal sea surface temperature (Stanley *et al.*, 2018). Currents in the upper layer of Penobscot Bay indicate steady outflows during spring and summer which may block the input of shallow water communities from northern communities (Xue *et al.*, 2000). Assuming that *N. americana* is a shallow water species, the hydrodynamic patterns of the Penobscot Bay may prevent the entrance of individuals from other regions (southern and northern) into the bay. Penobscot Bay is characterised by an estuarine circulation, which might imply more complex hydrodynamic patterns at the micro-scale, but range boundaries are basically set by environmental tolerances of species (Sunday *et al.*, 2012) and the exact location of the split for each species is strongly influenced by their dispersal limitations (Pappalardo *et al.*, 2015). Hence, this genetic structure might also highlight the limit of the dispersal capacity of the lineage A. More sampling locations along the Nova Scotia coasts, however, are necessary to support this hypothesis.

At meso- and smaller scales, several common haplotypes from the lineage A were widely distributed among the ETZ, the SLE and the GSL (Fig. 11). Non-significant Raymond and Rousset exact differentiation tests between these regions in combination with very low but significant Φ_{ST} values suggest still a homogenous haplotype distribution within the St. Lawrence system (Table 5b). The star-like haplotype network of the lineage A in the ETZ (Fig. 10) is indicative of range and/or demographic expansion (Rogers and Harpending, 1992). Therefore, according to the surface water circulation in the St. Lawrence estuary, which is mainly characterized by surface outflow of brackish water along the southern shore (Gaspé current) (Sheng, 2001; Gan *et al.*, 2004; Urrego-Blanco and Sheng, 2014; Lavoie *et al.*, 2016; Galbraith *et al.*, 2014), the ETZ could be the source population of the lineage A distribution throughout the St. Lawrence system.

Species or lineage distribution patterns might also be strongly controlled by environmental conditions, which in turn are affected by strong hydrodynamic forces (Locke and Corey, 1989). The different regions in the St. Lawrence system differ in their environmental conditions in terms of salinity and temperature (Table 2; El-Sabh and Silverberg, 1990). The St. Lawrence system consists of a complex suite of oligo- to polyhaline habitats (ETZ, SLE and GSL) characterized by different sea surface temperature regimes (5-20°C) during summer (Galbraith *et al.*, 2014; Lavoie *et al.*, 2016). The ETZ represents the region of confluence of the freshwater discharge from the continent and salt water inflow from the Gulf of St. Lawrence (Saucier and Chassé, 2000). Thus, it is affected by strong hydrodynamic forces and environmental gradients (Simons *et al.*, 2010). The ETZ shows high mean surface temperature and low salinity during summer in the oligohaline part whereas the lower St. Lawrence estuary displays high salinity and cold surface temperature during the same season. The lineage A occurred in various habitats along the St. Lawrence system and dominated the ETZ and the GSL whereas the lineage B dominated in the polyhaline and cold water coastal habitats of the lower St. Lawrence estuary. However, the mean abundance of lineage B in the SLE (2 ± 1 ind m^{-3}) was significantly lower than that of the lineage A in the ETZ (24 ± 22 ind m^{-3} ; unpublished data). Indeed, catching *N. americana* in the lower SLE during our sampling period was difficult and specimens were not found

until July around Rivière du Loup (Site 17) and until September in the Sainte-Anne des Monts (Site 21). Moreover, the high abundance of *N. americana* in low salinity and high temperature environments (ETZ) was consistent with previous studies performed during summer in the same region (Laprise and Dodson, 1994; Favier and Winkler, 2014). These results suggest potential eco-physiological differences between the lineage A and B in 1) temperature and 2) salinity tolerance. Based on the recent geographic distribution pattern of the lineages, we infer that the lineage A has a wider ecological niche (eurytherm and euryhaline) than the lineage B, which would be more stenotherm and stenohaline. Laprise and Dodson (1994) also found that increased temperature during summer was correlated with a significant demographic expansion of *N. americana* in the ETZ. This further supports that the ETZ populations may represent the source population of the current lineage A distribution along the St. Lawrence system and that the expansion event may occur preferentially during summer. During warm seasons, mysid species revealed continuous breeding with the production of multiple broods. In addition, several authors have established a positive correlation between temperature and the reproduction cycle of *N. americana*, including the St. Lawrence system as the northern limit of their distribution range. Indeed, populations living in warm water tend to produce more generations than populations living in cold water (Pezzack and Corey, 1979; Maurer and Wigley, 1982; Vinas *et al.*, 2005; Bouchard, 2016; Mayor *et al.*, 2017). Bouchard and Winkler (2018, submitted) highlighted that populations of *N. americana* in the ETZ displayed three generations per year, due to high water temperature in summer ($>20^{\circ}\text{C}$) which support the influence of temperature on the reproduction dynamic (Cowles, 1930; Hopkins, 1965; Wigley and Burns, 1971; Williams, 1972; Pezzack and Corey, 1979; Vinas *et al.*, 2005). In contrast, the *N. americana* from sites in the lower SLE never experience temperatures above 20°C (Galbraith *et al.* 2014). Thus comparing lineage distributions with generation times found in the literature one could argue that the lineage A and C may produce three generations per year regarding their warm habitats ($> 20^{\circ}\text{C}$) whereas the lineage B might produce only two generations per year at least in the lower SLE and the northwestern Gulf of St. Lawrence. Furthermore, various generation times within lineage A may occur between populations from the ETZ/GSL and populations

of the lower SLE due to different temperature regimes in these regions. Thus *N. americana* might display different life history traits such as generation time and number of generations per year in contrasting thermal habitats as has already been reported on the cryptic species complex *Mysis relicta* (Väinölä and Vaino, 1998). Thus, further research on the population dynamics of each lineage of *N. americana* would highlight potential differences among lineages and would provide a better understanding of how differential lineage population dynamics could influence ecosystem functioning across the estuarine gradient. The current abiotic parameter regimes (e.g. hydrodynamic, temperature, salinity) can act as significant barriers to gene flow and are consequently useful to explain how the present genetic patterns might be preserved across generations. Nevertheless, these proxies cannot entirely explain the present population structure of marine organisms. Therefore, significant attention should be granted to the colonization histories of species with low dispersal abilities over geological time scale (Wares, 2002; Wilson and Veraguth, 2010).

1.5.2 EVOLUTIONARY HISTORY

To place the origin of distinct *N. americana* lineages within a time frame and an associated environmental context, a genetic specific molecular clock is required. As no mutation rate of the mt-COI have been reported for mysids, a range of mutation rates (1.4-2.33% per million years) based on a snapping shrimp (*Alpheus*) was used (Knowlton and Weight, 1998; Schubart, 1998; Remerie *et al.*, 2006; Winkler *et al.*, 2008; Ren *et al.*, 2016; Cheng and Sha, 2017). If the minimum (1.4%/Mya) mutation rate was applied, the three *N. americana* lineages shared a last common ancestors 2.0-1.3 MYA during the early and middle Pleistocene which was long before the last glacial maximum (23kya - 18kya, LGM). The Quaternary has been described as an important time for genetic diversification and speciation (Hewitt, 2000; Willis and Niklas, 2004; Maggs *et al.*, 2008). This is based on the hypothesis that Quaternary climatic conditions increased the isolation of populations in glacial refugia and resulted in allopatric speciation (Willis and Niklas, 2004). Furthermore, the refugial concept usually suggests a contraction in spatial range and implies a decrease in

populations size (Provan and Bennett, 2008). Thus, the effects of genetic drift would be more pronounced in glacial refugia, where populations were small and isolated from each other (Knowles and Richards, 2005). Several studies along the North Atlantic suggest that these events have controlled the phylogeographic patterns and shaped the contemporary population structure in marine crustaceans and mysids in particular during the Pleistocene glacial cycles (Audzijonyte and Vainola, 2006; Audzijonyte *et al.*, 2006; Lejeusne and Chevaldonne, 2006; Remerie *et al.*, 2006; Remerie *et al.*, 2009; Wilson and Veraguth, 2010; Rastorgueff *et al.*, 2014). Thus, significant genetic divergence between the three lineages may have resulted from repeated/or constant isolation in distinct glacial refugia and may represent vicariant remnants of an ancestral population during one or several periods of the early and middle Pleistocene glacial era (Hewitt, 2000; Maggs *et al.*, 2008).

1.5.3 BIOGEOGRAPHICAL HYPOTHESIS OF POST GLACIAL DISPERSAL

The geographical origin of each lineage is difficult to infer due to the very limited sampling along the Northwest Atlantic coast outside the St. Lawrence system. However, climatic cooling during the LGM may have led northwest Atlantic populations (including the St. Lawrence system) to retreat southward of the ice shield or to settle in northward ice-free refugia (Grand Banks) as has been suggested for different species complexes, such as the copepod *Eurytemora affinis* (Lee, 2000; Winkler *et al.*, 2008) and the rainbow smelt *Osmerus mordax* (Bernatchez, 1997). Southward refugia have already been suggested for the Atlantic lineage of *Eurytemora* (now *Eurytemora carolleeae*) and the ancestral lineage B of the rainbow smelt, both inhabiting the St. Lawrence system. As these lineage distributions of *E. affinis* and *O. mordax* in the St. Lawrence were similar to the *N. americana* lineages, we hypothesize that the broad distribution of the lineage A in the estuary, the Gulf of St. Lawrence and the Gulf of Maine suggest an origin in a southward refugia around Georges Bank during the LGM. In contrast, the more confined distribution of the *N. americana* lineage

B in the lower estuary and the north-western Gulf of St. Lawrence may suggest an origin in the glacial refuge east of Newfoundland (Grand Banks).

Demographic analyses indicated expansion for all lineages of *N. americana* species complex during the late Pleistocene (Table 6 & 7, Fig. 13). However, the timing remains uncertain given the large confidence intervals (Table 7). Nevertheless, in the context of post glacial marine transgressions, which occurred during interglacial climate periods, *N. americana* demographic expansions would have occurred in concert with spatial expansions, namely re-colonisation of unoccupied habitats. Under the assumption that *N. americana* lineages evolved in various environmental conditions (habitats) several million years ago, we propose a post glacial dispersal mechanism during the end of the Wisconsinian glaciation which began 18,000 years ago. Until 13,000 years ago, northward dispersal was still limited due to the remaining ice sheet cover in the St. Lawrence system (Pagé, 1992; de Vernal *et al*, 1993). Between 13,000-12,000 years ago, the coast of Maine became ice free and the Champlain Sea marine transgression discharged via the Hudson River valley allowing potential northward dispersal route for organisms residing in southern glacial refugia, such as suggested for the lineage A of *N. americana*. Environmental conditions in the Champlain Sea could have been favourable for *N. americana* survival where surface salinity and water temperature respectively ranged from 5-20 PSU and 10-12°C in summer (Hillaire-Marcel, 1981). However, northward dispersal via the Champlain Sea of the lineage A might have been limited by the arctic conditions (cold temperature) that prevailed close to the glaciers in that period. Further elements support this scenario: (1) no haplotypes from the St. Lawrence populations were shared with Penobscot Bay, highlighting that lineage A would not have undertaken a northward migration via the coastlines, and (2) the Nova Scotia southward stream might have acted as an active barrier to northward colonization via the northwest Atlantic coastlines. In contrast, the haplotype frequencies of the lineage B dominate the St. Lawrence estuary and were very scattered and scarce in other regions which might suggest a southwestward expansion from the north/northeast of the Gulf of St. Lawrence. This sequence of events highlight how *N. americana* lineages may have established a post glacial secondary contact in the St. Lawrence system during the ice sheet retreat of the late

Wisconsinan glaciation about 8,000 years ago (de Vernal *et al.*, 1993). During the ice-sheet retreat, warming water conditions have become favorable to the lineage A to maintain abundant populations in the estuarine transition zone and the Gulf of St. Lawrence. In contrast, low water temperatures and high salinities occurring in the lower St. Lawrence estuary today may provide a more suitable habitat for the lineage B. These hypotheses that putative ecological preferences of each lineage exist and affect their present day distribution should be tested in future eco-physiological studies.

1.5.4 ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Valentin Montagnac for providing samples from the Miramichi River. We are thankful to Andy Cadaillon, Angélique Ollier, Antoine Dispas, Bruno Cayouette, Catherine Brault, Éloisa Giménez, Sarah Amaudrut, Sylvain Blondeau, Thomas Trombetta and Valentin Montagnac for the completion of the sampling campaign along the St. Lawrence system, and to Joseph Molina, Danielle Quill, Rosaura Chapina and Brooke Iacone for sampling in the Patuxent River. We also acknowledge Astrid Tempestini for her support with genetics analytic. We also thank to Québec-Océan and the University of Québec at Rimouski (UQAR) for their scientific support and scholarships. This project was financed by the NSERC Discovery Project Grant allocated to Gesche Winkler and represents a contribution to the research cluster Québec-Océan.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ce projet s'intègre dans un programme de recherche plus vaste visant à caractériser l'impact des processus estuariens sur la production secondaire, considérant la diversité génétique, la dynamique trophique et la connectivité au sein des habitats qui les composent. Cette étude s'intéresse à l'hétérogénéité génétique des populations de *Neomysis americana* dans son domaine de répartition Nord-Ouest Atlantique. Le principal intérêt était d'apporter de nouvelles connaissances sur la structure génétique des populations de l'espèce en étudiant une séquence d'ADN-mt.

Structure génétique de l'espèce *N. americana* dans son aire de répartition indigène nord-américaine

Les résultats obtenus à partir des analyses réalisées sur le gène mitochondrial COI ont révélé une grande hétérogénéité génétique chez *Neomysis americana* à travers son aire de répartition. Ces variations génétiques ont mis en évidence la présence d'un complexe d'espèces cryptiques le long de la côte nord-ouest Atlantique. Trois lignées divergentes à plus de 3% pour cette séquence ont été identifiées. La lignée A dominait l'ensemble du système du Saint-Laurent (sauf l'estuaire maritime) et la baie de Penobscot (Maine, É-U). Cette dernière constituait un sous ensemble génétiquement proche de la lignée A ne partageait cependant aucun haplotype avec celle-ci. La lignée B, également présente dans l'ensemble des régions évoquées ci-dessus, dominait uniquement la région de l'estuaire maritime du Saint-Laurent. La lignée C se trouvait exclusivement dans la baie de Chesapeake (Maryland, É-U). La structure génétique de l'espèce coïncide relativement bien

avec les différentes écorégions énoncées par Spalding et ces collaborateurs (2007). En effet, la lignée C est spécifique à la Virginie, la sous structure génétique de la lignée A est caractéristique du Golfe du Maine (Baie de Fundy) et où les lignées A et B évoluent en sympatrie au sein du système du Saint-Laurent avec une dominance propre au sein de différents habitats composant le système. Cette structure génétique révèle donc la présence de barrières géographiques entre ces différentes écorégions. Cependant, le manque de données le long de la côte ouest Atlantique ne permet pas de définir avec précision les endroits où les ruptures génétiques (« genetic breaks ») ont lieu. D'après la littérature, ces barrières pourraient se trouver au niveau du Cap Cod (barrière physique) ainsi que le long des côtes de la Nouvelle-Écosse (barrière thermique). De plus, la structure génétique globale de l'espèce supporte un modèle d'isolation par la distance où l'éloignement entre les populations est corrélé positivement avec l'augmentation de la différenciation génétique. Cette tendance se confirme également au sein de la lignée A montrant une sous structure génétique avec la population la plus éloignée.

La compréhension des variations dans la structure génétique intraspécifique constitue une base solide pour déterminer certaines caractéristiques environnementales clés dans lesquels ces dernières auraient pu évoluer au cours des derniers millénaires. Connaissant les caractéristiques abiotiques passées, il devient possible de retracer l'histoire évolutive d'une espèce.

Phylogéographie de l'espèce *N. americana* dans l'Estuaire et le Golfe du Saint-Laurent

Les forces de sélection et de spéciation passées se reflètent dans la distribution contemporaine des populations pour une grande majorité des organismes nord-américains. Par conséquent, un scénario hypothétique concernant l'histoire évolutive de *N. americana* dans l'estuaire et le golfe du Saint-Laurent a pu être formulé. D'après nos estimations, les lignées auraient divergé entre l'ère du Pléistocène inférieur et moyen (2,0-1,3 Ma). Les changements des conditions environnementales océaniques au cours de l'ère glaciaire du

Pléistocène ont impacté de manière significative la distribution des espèces côtières du nord de l'Atlantique. Les glaciations et déglaciations successives au cours de cette période ont constitué un des moteurs de spéciation chez de nombreux crustacés dans les régions du nord de l'Atlantique (Audzijonyte *et collab.*, 2005; Audzijonyte and Vainola, 2006; Audzijonyte, 2006; Lejeusne and Chevaldonne, 2006; Remerie *et collab.*, 2006; Remerie *et collab.*, 2009; Wilson and Veraguth, 2010; Rastorgueff *et collab.*, 2014). Aux vues de la répartition géographique et compte tenu des temps de divergence élevés séparant les lignées A et B, l'hypothèse selon laquelle ces dernières auraient évolué dans des environnements distincts a été formulée. Chacune des lignées aurait donc potentiellement évoluées dans des refuges glaciaires isolés aux caractéristiques abiotiques spécifiques. D'après des recherches menées sur d'autres organismes zooplanctoniques (i.e. *Eurytemora affinis*; Winkler *et collab.*, 2008), les lignées proviendraient respectivement de refuges glaciaires situés au sud de l'état de New-York (« Georges Bank ») et au Nord de Terre-Neuve (« Grand Banks »). La présence de ces deux lignées sympatriques dans le Saint-Laurent résulterait d'un contact secondaire pendant la recolonisation post-glacière qui a débutée il y a 18 000 ans. Finalement, l'ensemble des lignées (excepté la population de la Baie de Penobscot) présentaient un événement d'expansion démographique passé survenu entre -340 000 ans et -120 000 ans coïncidant avec des périodes de déglaciations.

Limites de l'étude et perspectives

Une étude phylogéographique a pour objectif de caractériser la répartition contemporaine de la structure génétique d'une espèce et d'en inférer les événements passés. Ce type d'étude s'est montré particulièrement efficace pour décrire l'impact du Quaternaire sur les espèces du nord de l'Atlantique. En effet, la mise en relation des données de génétique et de paléoclimatologie ont permis de retracer l'histoire évolutive de ces espèces, mais également de mettre en évidence l'effet des contractions et expansions glaciaires durant le Quaternaire sur les diverses populations qui les composent. La mise en place d'un plan

d'échantillonnage plus exhaustif et représentatif de l'aire de répartition indigène de l'espèce apparaît donc comme un facteur essentiel à la concrétisation de ce type d'étude.

Notre étude relate l'histoire évolutive de l'espèce *Neomysis americana* dont l'aire de répartition indigène s'étend sur plusieurs milliers de kilomètres le long des côtes au nord-ouest de l'océan Atlantique. Il est par conséquent difficile de retracer l'histoire évolutive de cette espèce lorsque l'échantillonnage le long de la côte Ouest Atlantique reste trop disparate pour avec certitude les hypothèses émises. La réalisation d'un échantillonnage plus exhaustif le long des côtes est américaine (p.ex. des états de la Floride, de la Californie, et du Massachusetts) et canadienne (Nouvelle-Écosse, Terre-Neuve) pourrait (1) légitimer les hypothèses de recolonisation postglaciaires des lignées A et B. Cela permettrait également (2) d'établir la présence de la lignée B au sein d'un des refuges glaciaires de Grands Bancs de Terre-Neuve durant la dernière glaciation mais également de valider la présence de la lignée A dans les refuges glaciaires de Banc de Georges (au large de l'état de New York). Un échantillonnage plus dense dans les régions connues (Cap Hatteras, Cap Cod, côtes de la Nouvelle-Écosse) présentant des changements radicaux dans la structure génétique d'espèce possédant des caractéristiques similaires à l'espèce *Neomysis americana* permettrait finalement de confirmer nos hypothèses en délimitant précisément les zones de ruptures géographiques.

Par ailleurs l'utilisation des méthodes de « DNA Barcoding » a vivement été critiquée au tout début par les taxonomistes, mais maintenant la méthode du code-barres est bien établie par la communauté scientifique (Will & Rubinoff, 2004; Will et collab., 2005; Rubinoff *et collab.*, 2006, Radulovici *et collab.*, 2010). En effet, l'utilisation de l'ADN mitochondriale révèle certaines limites pour caractériser distinctement une espèce. Les difficultés inhérentes à la définition de seuils de différenciation interspécifiques au sein de différents taxa constituent sans aucun doute la limite principale de l'utilisation de cette méthode pour délimiter une espèce (Will & Rubinoff, 2004). Hebert et ces collaborateurs (2003b) soulignent l'importance de définir des seuils de différenciation propre au taxon étudié. Dans notre étude, un seuil de différenciation nucléotidique de 3% a été avancé pour

définir la présence de lignées distinctes au sein du complexe d'espèces cryptiques de *Neomysis americana*. Ce seuil a été établi sur la base de recherches phylogéographiques sur des espèces proches (ici *Neomysis integer*), car la différenciation intra-spécifique entre *N. americana* et son congénère *N. integer* est de 11%. Toutefois il serait également possible de définir un seuil propre à l'espèce à l'instar des travaux de Tempestini et collaborateurs (2018). En effet la centralisation des séquences mitochondriales sur la plate-forme BOLD leur a permis d'utiliser plusieurs milliers de séquences (3879) représentant 272 espèces, 70 genres et 10 familles. Ce jeu de données leur a permis de définir un seuil de discrimination d'espèce propre à l'ordre des amphipodes. Cette méthode pourrait être appliquée à l'ordre des mysidacés afin d'émettre une première validation sur l'existence de plusieurs espèces au sein du complexe *Neomysis americana*.

La fixation d'un seuil de différenciation autre que celui utilisé pour ces travaux impliquerait une description différente de la répartition contemporaine de l'espèce. De plus, l'introgression d'hybride (homogénéisation des séquences ADN mitochondriales entre des espèces taxonomiquement dissimilaires) se révèle être un phénomène généralisé chez un grand nombre d'espèces d'arthropodes (Galtier *et collab.*, 2009). Cela signifie que l'ADN mitochondrial peut se révéler être une méthode d'identification taxonomique à la fiabilité discutable chez certaines espèces. Toutefois, l'utilisation du gène COI-mt est valable pour notre étude au vu des résultats obtenus à l'aide de cette méthode sur des organismes appartenant au genre *Neomysis* (Remerie et collab., 2006, Radulovici et al., 2009; Remerie et collab., 2009).

Une autre limitation du marqueur mitochondrial concerne son mode de transmission. En effet, l'ADN mitochondrial est hérité la plupart du temps (Giles *et al.*, 1980) de la lignée maternelle (mais voir Breton *et collab.*, 2007 pour exception). La description de l'histoire évolutive de l'espèce est donc considérée uniquement à travers l'appareil génétique des femelles, facilitant la mise en évidence de processus historiques mais limitant leurs interprétations. Si les processus de sélection agissent de différemment entre les mâles et

femelles, l'histoire évolutive décrite par le marqueur peut alors être biaisée (White *et collab.*, 2008).

Les contraintes exercées par les mécanismes de sélections sur les marqueurs moléculaires utilisés en phylogénétique et phylogéographie sont généralement dissimilaires. Pour ces raisons, un nombre croissant d'études se basent sur l'utilisation de plusieurs marqueurs (multilocus) pour mettre en évidence la structure génétique d'une espèce (Brito & Edwards, 2009). L'utilisation d'une variété de marqueurs retire la part des variations aléatoires affectant la transmission du gène et prend en considération les variations des pressions de sélection opérant entre les différents gènes étudiés (Edward, 2009). L'utilisation de marqueurs distincts comme l'ADN mitochondrial, chloroplastique et nucléaire permettrait 1) de confirmer la structure génétique trouvée sur le gène COI-mt chez *N. americana* ou 2) de mettre en évidence différente structure au sein des populations de *N. americana* tout en mettant en avant l'implication de mécanismes évolutifs variés (p. ex. dérive génétique, sélection). De plus, l'horloge moléculaire, spécifique au marqueur utilisé, va permettre d'étudier les populations à échelles de temps variables permettant ainsi de retracer l'histoire évolutive de l'espèce sur des temps évolutifs plus anciens (horloge moléculaire plus lente) ou au contraire plus récents (horloge moléculaire plus rapide). Les méthodes ISSR (Inter-Simple-Sequence-Repeat) et microsatellites et les radtag sont couramment utilisées dans les études phylogéographiques pour regarder les variations génétiques de portions non codantes de l'ADN nucléaire. De ce fait, elles subissent une évolution « neutre » et sont caractérisées par des taux de recombinaison extrêmement élevés. L'utilisation de tels marqueurs pourrait donc permettre de regarder la dynamique de flux génique contemporaine permettant d'étudier l'histoire évolutive récente et détaillée de *N. americana*. Finalement, l'utilisation des futures générations de séquençage tel que les SNPs permettra une réalisation nettement plus aisée, rapide et à terme « peu coûteuse » des études phylogéographiques basées sur l'utilisation de marqueurs multilocus (McCormack *et collab.*, 2013).

L'ensemble des points évoqués précédemment révèle la nécessité de réaliser des recherches approfondies concernant la taxonomie, l'écologie, la physiologie et la dynamique

de populations de chacune des lignées nouvellement décrites afin d'en valider les structures génétiques. De plus, la mise en évidence de différenciations au sein de ces axes permettrait de valider l'utilisation d'un seuil de différenciation de 3% de divergence entre les lignées pour définir un complexe d'espèces cryptiques chez *N. americana*. Il serait également pertinent de réaliser des expériences de croisement entre les différentes lignées afin de considérer l'existence de mécanismes d'isolations reproducteurs pouvant agir sur la différenciation génétique au sein du complexe. La mise en évidence d'un isolement reproducteur entre les lignées du complexe suggérerait la nécessité d'une révision taxonomique de l'espèce. Finalement, des variations écologiques significatives entre les différentes lignées pourraient affecter la dynamique trophique du milieu dans lequel elles évoluent. Cette espèce fourragère omnivore contribue largement aux transferts d'énergie des producteurs primaires vers les consommateurs supérieurs. Une différence dans les temps de génération entre les lignées (L_A et L_B) pourrait induire un retard dans l'apparition de certaines espèces prédatrices et donc modifier la dynamique du réseau trophique dans lesquels elles sont impliquées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams, D. C., Berns, C. M., Kozak, K. H. and Wiens, J. J. (2009) Are rates of species diversification correlated with rates of morphological evolution? *Proc. R. Soc. B.*, **276**, 2729–2738.
- Altermatt, F., Alther, R., Fišer, C., Jokela, J., Konec, M., Küry, D., Mächler, E., Stucki, P. and Westram, A. M. (2014) Diversity and distribution of freshwater amphipod species in Switzerland (Crustacea: Amphipoda). *Plos One*, **9**, e110328.
- Audzijonytė, A. (2006) Diversity and zoogeography of continental mysid crustaceans. *W. & A. de Nottbeck Foundation Sci. Rep.*, **28**, 1–46.
- Audzijonytė, A. and Väinölä, R. (2006) Phylogeographic analyses of a circumarctic coastal and a boreal lacustrine mysid crustacean and evidence of fast postglacial mtDNA rates. *Mol. Ecol.*, **15**, 3287–3301.
- Audzijonytė, A., Damgaard, J., Varvio, S. L., Vainio, J. K. and Väinölä, R. (2005) Phylogeny of *Mysis* (Crustacea, Mysida): history of continental invasions inferred from molecular and morphological data. *Cladistics*, **21**, 575–596.
- Audzijonytė, A., Daneliya, M. E. and Väinölä, R. (2006) Comparative phylogeography of Ponto-Caspian mysid crustaceans: isolation and exchange among dynamic inland sea basins. *Mol. Ecol.*, **15**, 2969–2984.
- Audzijonytė, A., Ovcarenko, I., Bastrop, R. and Väinölä, R. (2008) Two cryptic species of the *Hediste diversicolor* group (Polychaeta, Nereididae) in the Baltic Sea, with mitochondrial signatures of different population histories. *Mar. Biol.*, **155**, 599–612.
- Agapow, P., Bininda-Emonds, O. R. P., Crandall, K. A., Gittleman, J. L., Mace, G. M., Marshall, J. C. and Purvis, A. (2004) The impact of species concept on biodiversity studies. *Q. Rev. Biol.*, **79**, 161–179.
- Avise, J. C. (1992) Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos*, **63**, 62–76.
- Avise, J. C. (1998) The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Mol. Ecol.*, **7**, 371–379.
- Avise, J. C. (2000) *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

- Avise, J. C. (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. *J. Biogeogr.*, **36**, 3–15.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A. and Saunders, N. C. (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **18**, 489–522.
- Barton, N. H. (1984) Genetic revolutions, founder effects, and speciation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **15**, 133–164.
- Bensch, S., Pérez-Tris, J., Waldenström, J. and Hellgren, O. (2004) Linkage between nuclear and mitochondrial DNA sequences in avian malaria parasites: multiple cases of cryptic speciation? *Evol.*, **58**, 1617–1621.
- Bernatchez, L. (1997) Mitochondrial DNA analysis confirms the existence of two glacial races of rainbow smelt *Osmerus mordax* and their reproductive isolation in the St. Lawrence River estuary (Quebec, Canada). *Mol. Ecol.*, **6**, 73–83.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Peter, K. L. Ng., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K. and Das, I. (2007) Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.*, **22**, 148–155.
- Bierne, N., Welch, J., Loire, E., Bonhomme, F. and David, P. (2011) The coupling hypothesis: why genome scans may fail to map local adaptation genes. *Mol. Ecol.*, **20**, 2044–2072.
- Bilton, D., Paula, J. and Bishop, J. D. (2002) Dispersal, genetic differentiation and speciation in estuarine organisms. *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.*, **55**, 937–952.
- Bohonak, A. J. (1999) Dispersal, gene flow and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, **74**, 21–45.
- Bouchard, L. (2016) La dynamique de population de *Neomysis americana* (Mysidacea ; Crustacea) dans la zone de transition estuarienne du Saint-Laurent. Université du Québec à Rimouski (UQAR).
- Bowen, B. W., Gaither, M. R., DiBattista, J. D., Iacchei, M., Andrews, K. R., Grant, W. S., Toonen, R. J. and Briggs, J. C. (2016) Comparative phylogeography of the ocean planet. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **113**, 7962–7969.
- Bravo, G. A., Remsen, J. V. and Brumfield, R. T. (2014) Adaptive processes drive ecomorphological convergent evolution in antwrens (Thamnophilidae). *Evol.*, **68**, 2757–2774.

- Breton, S., Beaupré, H. D., Stewart, D. T., Hoeh, W. R. and Blier, P. U. (2007) The unusual system of doubly uniparental inheritance of mtDNA: isn't one enough? *Trends in Genet.*, **23**, 465–474.
- Brito, P. H. and Edwards, S. V. (2009) Multilocus phylogeography and phylogenetics using sequence-based markers. *Genetica*, **135**, 439–455.
- Buchheister, A. and Latour, R. J. (2015) Diets and trophic-guild structure of a diverse fish assemblage in Chesapeake Bay, U.S.A. *J. Fish Biol.*, **86**, 967–992.
- Buhay, J. E. (2009) “COI-like” sequences are becoming problematic in molecular systematic and DNA barcoding studies. *J. Crustacean Biol.*, **29**, 96–110.
- Bumpus, D. F. (1973) A description of the circulation on the continental shelf of the east coast of the United States. *Progr. Oceanogr.*, **6**, 111–157.
- Cabrol, J., Winkler, G. and Tremblay, R. (2015) Physiological condition and differential feeding behaviour in the cryptic species complex *Eurytemora affinis* in the St Lawrence estuary. *J. Plankton Res.*, **37**, 372–387.
- Cassone, B. J. and Boulding, E. G. (2006) Genetic structure and phylogeography of the lined shore crab, *Pachygrapsus crassipes*, along the northeastern and western Pacific coasts. *Mar. Biol.*, **149**, 213–226.
- Cheng, J. and Sha, Z. (2017) Cryptic diversity in the Japanese mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* (Crustacea: Squillidae): allopatric diversification, secondary contact and hybridization. *Sci. Rep.*, **7**, 1–7.
- Chevaldonné, P., Rastorgueff, P.A., Arslan, D. and Lejeusne, C. (2015) Molecular and distribution data on the poorly known, elusive, cave mysid *Harmelinella mariannae* (Crustacea: Mysida). *Mar. Ecol.*, **36**, 305–317.
- Chust, G., Villarino, E., Chenuil, A., Irigoien, X., Bizsel, N., Bode, A., Broms, C., Claus, S. *et al.* (2016) Dispersal similarly shapes both population genetics and community patterns in the marine realm. *Sci. Rep.*, **6**, 1–12.
- Clement, M., Snell, Q., Walke, P., Posada, D. and Crandall, K. (2002) TCS: estimating gene genealogies. *Proceeding 16th International Parallel Distributed Processing Symposium*, p. 184.
- Colgan, D. J. (2016) Marine and estuarine phylogeography of the coasts of south-eastern Australia. *Mar. Freshwater Res.*, **67**, 1597–1610.

- Corey, S. (1988) Quantitative distributional patterns and aspects of the biology of the Mysidacea (Crustacea: Peracarida) in the zooplankton of the Bay of Fundy region. *Can. J. Zool.*, **66**, 1545–1552.
- Cowles, R. P. (1930) A biological study of the offshore waters of Chesapeake Bay. *Fish. Bull.*, 277–381.
- Coyne, J.A. (1992). Genetics and speciation. *Nature*, **355**, 511–515.
- Cristescu, M. E. and Hebert, P. D. (2005) The “Crustacean Seas” an evolutionary perspective on the Ponto-Caspian peracarids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **62**, 505–517.
- Damm, S., Schierwater, B. and Hadrys, H. (2010) An integrative approach to species discovery in odonates: from character-based DNA barcoding to ecology. *Mol. Ecol.*, **19**, 3881–3893.
- Dawson, M. N., Staton, J. L. and Jacobs, D. K. (2001) Phylogeography of the tidewater goby, *Eucyclogobius newberryi* (Teleostei, Tobiidae), in coastal California. *Evol.*, **55**, 1167–1179.
- De Meester, N., Derycke, S., Rigaux, A. and Moens, T. (2015) Temperature and salinity induce differential responses in life histories of cryptic nematode species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **472**, 54–62.
- De Queiroz, K. (1998) The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation. In: *Endless Forms. Species and Speciation* (eds Howard DJ, Berlocher SH), Oxford University Press, Oxford, 57–75.
- De Queiroz, K. (2005) A unified concept of species and its consequences for the future of taxonomy. *Proc. Calif. Acad. Sci.*, **56**, 196–215.
- De Queiroz, K. (2007) Species concepts and species delimitation. *Syst. Biol.*, **56**, 879–886.
- De Vernal, A., Guiot, J. and Turon, J. L. (1993) Late and postglacial paleoenvironments of the Gulf of St. Lawrence: marine and terrestrial palynological evidence. *Géographie Physique et Quaternaire*, **47**, 167–180.
- Dellicour, S. and Flot, J. F. (2015) Delimiting species-poor data sets using single molecular markers: a study of barcode gaps, haplowebs and GMYC. *Syst. Biol.*, **64**, 900–908.

- Derycke, S., De Meester, N., Rigaux, A., Creer, S., Bik, H., Thomas, W. K. and Moens, T. (2016) Coexisting cryptic species of the *Litoditis marina* complex (Nematoda) show differential resource use and have distinct microbiomes with high intraspecific variability. *Mol. Ecol.*, **25**, 2093–2110.
- Díaz-Ferguson, E., Robinson, J. D., Silliman, B. and Wares, J. P. (2010) Comparative phylogeography of North American Atlantic salt marsh communities. *Estuaries Coasts*, **33**, 828–839.
- Dionne, K., Dufresne, F. and Nozais, C. (2017) Overlapping trophic niches among co-occurring amphipods from a cryptic species complex. *Freshwater Biol.*, **62**, 1052–1062.
- Dobzhansky, T. (1950) Genetics of natural populations. Xix. Origin of heterosis through natural selection in populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genet.*, **35**, 288–302.
- Donoghue, M. J. (1985) A critique of the biological species concept and recommendations for a phylogenetic alternative. *Bryologist*, **88**, 172.
- Dos Reis, M., Donoghue, P. C. J. and Yang, Z. (2015) Bayesian molecular clock dating of species divergences in the genomics era. *Nat. Rev. Genet.*, **17**, 71–80.
- Drinkwater, K. F. and Gilbert, D. (2004) Hydrographic variability in the waters of the Gulf of St. Lawrence, the Scotian Shelf and the eastern Gulf of Maine (NAFO Subarea 4) during 1991–2000. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, **34**, 85–101.
- Durou, C., Smith, B. D., Roméo, M., Rainbow, P. S., Mouneyrac, C., Mouloud, M., Gnassia-Barelli, M., Gillet, P. *et al.* (2007) From biomarkers to population responses in *Nereis diversicolor*: Assessment of stress in estuarine ecosystems. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **66**, 402–411.
- Dyke, A. S. (2004) An outline of North American deglaciation with emphasis on central and northern Canada. *Quat. Sci. Rev.*, 373–424.
- Eberl, R., Cohen, S., Cipriano, F. and Carpenter, E. (2007) Genetic diversity of the pelagic harpacticoid copepod *Macrosetella gracilis* on colonies of the cyanobacterium *Trichodesmium* spp. *Aquat. Biol.*, **1**, 33–43.
- Edwards, S. V. (2009) Is a new and general theory of molecular systematics emerging? *Evol.*, **63**, 1–19.

- Egea, E., David, B., Choné, T., Laurin, B., Féral, J. P. and Chenuil, A. (2016) Morphological and genetic analyses reveal a cryptic species complex in the echinoid *Echinocardium cordatum* and rule out a stabilizing selection explanation. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **94**, 207–220.
- Einfeldt, A. L. and Addison, J. A. (2013) Hydrology influences population genetic structure and connectivity of the intertidal amphipod *Corophium volutator* in the northwest Atlantic. *Mar. Biol.*, **160**, 1015–1027.
- Einfeldt, A. L., Doucet, J. R. and Addison, J. A. (2014) Phylogeography and cryptic introduction of the ragworm *Hediste diversicolor* (Annelida, Nereididae) in the Northwest Atlantic. *Invertebr. Biol.*, **133**, 232–241.
- Einfeldt, A. L., Zhou, F. and Addison, J. A. (2017) Genetic discontinuity in two high dispersal marine invertebrates in the northwest Atlantic. *FACETS* 2, 160–177.
- El-Sabh, M. I. and Silverberg, N. (1990) Oceanography of a largescale estuarine system: the St. Lawrence. *Coastal Estuarine Stud.*, **39**, p. 434.
- Epifanio, C. E. and Garvine, R. W. (2001) Larval transport on the Atlantic Continental Shelf of North America: a review. *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, **52**, 51–77.
- Lee, C. E. (2000) Global phylogeography of a cryptic copepod species complex and reproductive isolation between genetically proximate “populations”. *Evol.*, **54**, 2014–2027.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. (2005) Arlequin (version 3. 0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinf.*, **1**, 47–50.
- Favier, J.-B. and Winkler, G. (2014) Coexistence, distribution patterns and habitat utilization of the sibling species complex *Eurytemora affinis* in the St Lawrence estuarine transition zone. *J. Plankton Res.*, **36**, 1247–1261.
- Flot, J. F. (2015) Introduction to the SSB symposium issue. *Behalf Soc. Syst. Biolog.*, 1–10.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **3**, 294–299.
- Fulton, R. S. (1982) Predatory feeding of two marine mysids. *Mar. Biol.*, **72**, 183–191.

- Fulton, R. S. (1983) Interactive effects of temperature and predation on an estuarine zooplankton community. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **72**, 67–81.
- Galbraith, P. S., Chassé, J., Gilbert, D., Larouche, P., Caverhill, C., Lefaiivre, D., Brickman, D., Pettigrew, B. *et al.* (2014) Physical oceanographic conditions in the Gulf of St. Lawrence in 2013. DFO. *Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc.*, 1–90.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S. and Hurst, G. D. D. (2009) Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Mol. Ecol.*, **18**, 4541–4550.
- Gan, J., Ingram, R. G., Greatbatch, R. J. and van der Baaren, T. (2004) Variability of circulation induced by the separation of Gaspé Current in Baie des Chaleurs (Canada): observational studies. *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, **61**, 393–402.
- Garant, D., Forde, S. E. and Hendry, A. P. (2007) The multifarious effects of dispersal and gene flow on contemporary adaptation. *Br. Ecol. Soc. Function. Ecol.*, **21**, 434–443.
- Gissi, C., Iannelli, F. and Pesole, G. (2008) Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. *Heredity*, **101**, 301–320.
- Guerra-Garcia, J. M. and Garcia-Gomez, J. C. (2001) The spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar area). *Mar. Ecol.*, **22**, 357–367.
- Gustafsson, A. L. S., Skrede, I., Rowe, H. C., Gussarova, G., Borgen, L., Rieseberg, L. H., Brochmann, C. and Parisod, C. (2014) Genetics of cryptic speciation within an Arctic Mustard, *Draba nivalis*. *Plos One*, **9**, e93834.
- Haney, R. A., Silliman, B. R., Fry, A. J., Layman, C. A. and Rand, D. M. (2007) The Pleistocene history of the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*): non-equilibrium evolutionary dynamics within a diversifying species complex. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **43**, 743–754.
- Harvey, P. H. and Pagel, M. D. (1991) The comparative method in evolutionary biology. *Oxford University Press*, Oxford, England.
- Heard, R. W., Price, W., Knott, D. M., King, R. A. and Allen, D. M. (2006) A taxonomic guide to the Mysids of the South Atlantic Bight. *Natl. Oceanic Atmos. Adm.* (NOAA), NMFS.

- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. and deWaard, J. R. (2003a) Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **270**, 313–321.
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S. and de Waard, J. R. (2003b). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **270**, 96–99.
- Hellberg, M. E., Burton, R. S., Neigel, J. E. and Palumbi, S. R. (2002) Genetic assessment of connectivity among marine populations. *Bull. Mar. Sci.*, **70**, 273–290.
- Herman, S. S. (1963) Vertical migration of the opossum shrimp, *Neomysis americana* Smith. *Limnol. Oceanogr.*, **8**, 228–238.
- Hewitt, G. M. (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907–913.
- Hewitt, G. M. (1996) Some genetic consequences of ice ages and their role in divergence and speciation. *Biol. J. Linn. Soc.*, **58**, 247–276.
- Hillaire-Marcel, C. (1981) Paléo-océanographie isotopique des mers post-glaciaires du Québec. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.*, **35**, 63–119.
- Hirai, J., Tsuda, A. and Goetze, E. (2015) Extensive genetic diversity and endemism across the global range of the oceanic copepod *Pleuromamma abdominalis*. *Prog. Oceanogr.*, **138**, 77–90.
- Hopkins, T. L. (1965) Mysid shrimp abundance in surface waters of Indian River Inlet, Delaware. *Chesapeake Sci.*, **6**, 86–91.
- Hulburt, E. M. (1957) The distribution of *Neomysis americana* in the Estuary of the Delaware River. *Limnol. Oceanogr.*, **2**, 1–11.
- Hutchison, D. W. and Templeton, A. R. (1999) Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evol.*, **53**, 1898–1914.
- Islam, M. RU., Schmidt, D. J., Crook, D. A. and Hughes, J. M. (2018) Patterns of genetic structuring at the northern limits of the Australian smelt (*Retropinna semoni*) cryptic species complex. *PeerJ*, **6**, e4654.
- Ives, J. D. (1978) The maximum extent of the Laurentide ice sheet along the east coast of North America during the last glaciation. *Arctic*, **31**, 24–53.

- Jacobs, D. K., Haney, T. A. and Louie, K. D. (2004) Genes, diversity and geologic process on the Pacific coast. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.*, **32**, 601–652.
- Johnson, W. S. (2015) Suprabenthic species distributions relative to small-scale bathymetric features along the Virginia coast, USA. *Mar. Biol. Res.*, **11**, 1009–1020.
- Johnson, W. S. (2016) Distribution and abundance of suprabenthic Peracarid Crustaceans from the benthic boundary layer off of Assateague Virginia, USA. *Biol. Sci.*, 1–25
- Jorde, P. E., Søvik, G., Westgaard, JI., Albretsen, J., André, C., Hvingel, C., Johansen, T., Sandvik, A. D. *et al.* (2015) Genetically distinct populations of northern shrimp, *Pandalus borealis*, in the North Atlantic: adaptation to different temperatures as an isolation factor. *Mol. Ecol.*, **24**, 1742–1757.
- Jumars, P. (2007) Habitat coupling by mid-latitude, subtidal, marine mysids: import-subsidised omnivores. *Oceanogr. Mar. Biol.*, **45**, 89–138.
- Kawecki, T. J. (2008) Adaptation to marginal habitats. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **39**, 321–342.
- Kelly, R. P. and Palumbi, S. R. (2010) Genetic structure among 50 species of the Northeastern Pacific rocky intertidal community. *Plos One*, **5**, e8594.
- Kelly, D. W., MacIsaac, H. J. and Heath, D. D. (2006) Vicariance and dispersal effects on phylogeographic structure and speciation in a widespread estuarine invertebrate. *Evol.*, **60**, 257–267.
- Knowles, L. L. and Richards, C. L. (2005) Importance of genetic drift during Pleistocene divergence as revealed by analyses of genomic variation. *Mol. Ecol.*, **14**, 4023–4032.
- Knowlton, N. (1993) Sibling species in the Sea. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **2**, 189–216.
- Knowlton, N. and Weigt, L. A. (1998) New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, **265**, 2257–2263.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016) MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7. 0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.*, **33**, 1870–1874.
- Lapierre, JF. and Frenette, JJ. (2008) Advection of freshwater phytoplankton in the St. Lawrence River estuarine turbidity maximum as revealed by sulfur-stable isotopes. *Mar. Ecol.*, **372**, 19–29.

- Laprise, R. and Dodson, J. J. (1994) Environmental variability as a factor controlling spatial patterns in distribution and species diversity of zooplankton in the St. Lawrence Estuary. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **107**, 67–81.
- Lavoie, D., Chassé, J., Simard, Y., Lambert, N., Galbraith, P. S., Roy, N. and Brickman, D. (2016) Large-scale atmospheric and oceanic control on krill transport into the St. Lawrence Estuary evidenced with three-dimensional numerical modelling. *Atmos.-Ocean*, **54**, 299–325.
- Lecomte, F. and Dodson, J. J. (2004) Role of early life-history constraints and resource polymorphism in the segregation of sympatric populations of an estuarine fish. *Evol. Ecol. Res.*, **6**, 631–658.
- Lee, C. E. and Petersen, C. H. (2003) Effects of developmental acclimation on adult salinity tolerance in the freshwater invading copepod *Eurytemora affinis*. *Physiol. Biochem. Zool.*, **76**, 296–301.
- Leibold, M. A. and McPeck, M. A. (2006) Coexistence of the niche and neutral perspectives in community ecology. *Ecology*, **87**, 1399–1410.
- Leigh, J. W. and Bryant, D. (2015) Popart : full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol. Evol.*, **6**, 1110–1116.
- Lejeusne, C. and Chevaldonné, P. (2006) Brooding crustaceans in a highly fragmented habitat: the genetic structure of Mediterranean marine cave-dwelling mysid populations. *Mol. Ecol.*, **15**, 4123–4140.
- Lenormand, T. (2002) Gene flow and the limits to natural selection. *Trends Ecol. Evol.*, **17**, 183–189.
- Lieberman, B. S. and Dudgeon, S. (1996) An evaluation of stabilizing selection as a mechanism for stasis. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.*, **127**, 229–238.
- Locke, A. and Corey, S. (1989) Amphipods, isopods and surface currents: a case for passive dispersal in the Bay of Fundy, Canada. *J. Plankton Res.*, **11**, 419–430.
- Maddison, W. P. and D.R. Maddison. (2018) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.5. <http://www.mesquiteproject.org>.
- Maggs, C. A., Castilho, R., Foltz, D., Henzler, C., Jolly, M. T., Kelly, J., Olsen, J., Perez, K., *et al.* (2008) Evaluating signatures of glacial refugia for North Atlantic benthic marine taxa. *Ecology*, **89**, 108–122.

- Mallet, J. (1995) A species definition for the Modern Synthesis. *Trends Ecol. Evol.*, **10**, 294–299.
- Marko, P. B. (2004) “What’s larvae got to do with it?” Disparate patterns of post-glacial population structure in two benthic marine gastropods with identical dispersal potential. *Mol. Ecol.*, **13**, 597–611.
- Marshall, S. J. and Clarke, G. K. C. (1999) Modeling North American freshwater runoff through the last glacial cycle. *Quat. Res.*, **52**, 300–315.
- Marshall, S. J., James, T. S. and Clarke, G. K. C. (2002) North American ice sheet reconstructions at the last glacial maximum. *Quat. Res.*, **21**, 175–192.
- Martinson, D. G., Pisias, N. G., Hays, J. D., Imbrie, J., Moore, T. C. and Shackleton, N. J. (1987) Age dating and the orbital theory of the ice ages: development of a high-resolution 0 to 300,000-year chronostratigraphy. *Quat. Res.*, **27**, 1–29.
- Mauchline, J. (1980) The broods of British Mysidacea (Crustacea). *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **53**, 801–817.
- Maurer, D. and Wigley, R. L. (1982) Distribution and ecology of mysids in Cape Cod Bay, Massachusetts. *Biol. Bull.*, **163**, 477–491.
- Mayden, R. L. (1997) Species: the units of biodiversity. London, New York : Chapman & Hall.
- Mayer, D. A., Hansen, D. V. and Ortman, D. A. (1979) Long-term current and temperature observations on the Middle Atlantic Shelf. *J. Geophys. Res.*, **84**, 1776–1792.
- Mayor, E., Chigbu, P., Pierson, J. and Kennedy, V. S. (2017) Composition, abundance and life history of mysids (Crustacea: Mysida) in the Coastal Lagoons of MD, USA. *Estuaries Coasts*, **40**, 224–234.
- Mayr, E. (1942). Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist. *Harvard University Press*.
- Mayr, E. (1948) The bearing of the new systematics on genetical problems the nature of species. *Genetics*, 205–237.
- Mayr, E. (1954). Change of genetic environment and evolution. *Evol. Proc.*, 157–180.
- Mayr, E. (1963) Animal species and evolution. *Harvard University Press*, Cambridge, Massachusetts.

- McCormack, J. E., Hird, S. M., Zellmer, A. J., Carstens, B. C. and Brumfield, R. T. (2013) Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **66**, 526–538.
- McLusky D. S. and Elliott M. (2004) The estuarine ecosystem: ecology, threats and management. *Oxford University Press*, Oxford.
- Mees, J., Dewicke, A. and Hamerlynck, O. (1993) Seasonal composition and spatial distribution of hyperbenthic communities along estuarine gradients in the Westerschelde. *Neth. J. Aquat. Ecol.*, **27**, 359–376.
- Meland, K., Mees, J., Porter, M. and Wittmann, K. J. (2015) Taxonomic review of the orders Mysida and Stygiomysida (Crustacea, Peracarida). *Plos One*, **10**, e0124656.
- Meyer, C. P. and Paulay, G. (2005) DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *Plos Biol.*, **3**, e422.
- Mora, C., Tittensor, D. P., Adl, S., Simpson, A. G. B. and Worm, B. (2011) How many species are there on Earth and in the Ocean? *Plos Biol.*, **9**, e1001127.
- Muangmai, N., Preuss, M. and Zuccarello, G. C. (2015) Comparative physiological studies on the growth of cryptic species of *Bostrychia intricata* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) in various salinity and temperature conditions. *Phycol. Res.*, **63**, 300–306.
- Nei, M. (1987) Molecular evolutionary genetics (Columbia University Press).
- Norris, R. D. and Hull, P. M. (2012) The temporal dimension of marine speciation. *Evol. Ecol.*, **26**, 393–415.
- Nygren, A. (2014) Cryptic polychaete diversity: a review. *Zool. Scr.*, **43**, 172–183.
- Pagé, P. (1992) L'environnement glaciaire: l'histoire et la stratigraphie des glaciations continentales dans l'hémisphère Nord au cours du Quaternaire. Montréal: Guérin éditeurs, Montréal, Canada, 368 pp.
- Pappalardo, P., Pringle, J. M., Wares, J. P. and Byers, J. E. (2015) The location, strength and mechanisms behind marine biogeographic boundaries of the east coast of North America. *Ecography*, **38**, 722–731.
- Paul, S. and Calliari, D. (2017) Salinity and temperature tolerances of *Neomysis americana* (Crustacea: Mysida) sub adults: Perspectives on vulnerability and distribution in South America. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **486**, 373–378.

- Paxton, H. and Åkesson, B. (2010) The *Ophryotrocha labronica* group (Annelida: Dorvilleidae) with the description of seven new species. *Zootaxa*, **2713**, 1–24.
- Pérez-Ponce de León, G. and Poulin, R. (2016) Taxonomic distribution of cryptic diversity among metazoans: not so homogeneous after all. *Biol. Lett.*, **12**, 2016.0371.
- Person, M., McIntosh, J., Bense, V. and Remenda, V. H. (2007) Pleistocene hydrology of North America: the role of ice sheets in reorganizing groundwater flow systems. *Rev. Geophys.*, **45**, 1–28.
- Peter Linder, H. (2017) Phylogeography. *J. Biogeogr.*, **44**, 243–244.
- Pezzack, D. S. and Corey, S. (1979) The life history and distribution of *Neomysis americana* (Smith) (Crustacea, Mysidacea) in Passamaquoddy Bay. *Can. J. Zool.*, **57**, 785–793.
- Pezzack, D. S. and Corey, S. (1982) Effects of temperature and salinity on immature and juvenile *Neomysis americana* (Smith) (Crustacea; Mysidacea). *Can. J. Zool.*, **60**, 2725–2728.
- Pimm, S. L., Jenkins, C. N., Abell, R., Brooks, T. M., Gittleman, J. L., Joppa, L. N., Raven, P. H., Roberts, C. M. *et al.* (2014) The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution and protection. *Science*, **344**, 987–997.
- Porter, M. L., Meland, K. and Price, W. (2008) Global diversity of mysids (Crustacea-Mysida) in freshwater. *Hydrobiologia*, **595**, 213–218.
- Provan, J. and Bennett, K. (2008) Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends Ecol. Evol.*, **23**, 564–571.
- Radulovici, A. E., Sainte-Marie, B. and Dufresne, F. (2009) DNA barcoding of marine crustaceans from the Estuary and Gulf of St Lawrence: a regional-scale approach. *Mol. Ecol. Resour.*, **9**, 181–187.
- Radulovici, A. E., Archambault, P. and Dufresne, F. (2010) DNA barcodes for marine biodiversity: moving fast forward? *Diversity*, **2**, 450–472.
- Radulovici, A. (2012) L'histoire de deux niveaux de biodiversité démontrée par le code-barre d'ADN chez les crustacés de l'Atlantique du Nord. Thèse. Rimouski, Québec, Université du Québec à Rimouski, Département de biologie, chimie et géographie, 240 pp.

- Rastorgueff, P.A. and Bianchimani, O. (2015) Niche differentiation, habitat fragmentation and population connectivity implications in Mediterranean marine cave-dwelling mysids. *Mar. Biodiv.*, **46**, 317–318.
- Rastorgueff, P.A., Chevaldonné, P., Arslan, D., Verna, C. and Lejeusne, C. (2014) Cryptic habitats and cryptic diversity: unexpected patterns of connectivity and phylogeographical breaks in a Mediterranean endemic marine cave mysid. *Mol. Ecol.*, **23**, 2825–2843.
- Raymond, M. and Rousset, F. (1995) Exact test for population differentiation. *Evolution*, **49**, 1280–1283.
- Reeb, C. A. and Avise, J. C. (1990) A genetic discontinuity in a continuously distributed species: mitochondrial DNA in the American Oyster, *Crassostrea virginica*. *Genetics*, **124**, 397–406.
- Remerie, T., Bourgois, T., Peelaers, D., Vierstraete, A., Vanfleteren, J. and Vanreusel, A. (2006) Phylogeographic patterns of the mysid *Mesopodopsis slabberi* (Crustacea, Mysida) in Western Europe: evidence for high molecular diversity and cryptic speciation. *Mar. Biol.*, **149**, 465–481.
- Remerie, T., Vierstraete, A., Weekers, P. H. H., Vanfleteren, J. R. and Vanreusel, A. (2009) Phylogeography of an estuarine mysid, *Neomysis integer* (Crustacea, Mysida), along the north-east Atlantic coasts. *J. Biogeogr.*, **36**, 39–54.
- Ren, G., Miao, G., Ma, C., Lu, J., Yang, X. and Ma, H. (2016) Genetic structure and historical demography of the blue swimming crab (*Portunus pelagicus*) from southeastern sea of China based on mitochondrial COI gene. *Mitochondrial DNA, Part A*, **29**, 192–198.
- Rogers, A. R. and Harpending, H. (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.*, **9**, 552–569.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E. and Sánchez-Gracia, A. (2017) DNAsp 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Mol. Biol. Evol.*, **34**, 3299–3302.
- Rubinoff, D., Cameron, S., and Will, K. (2006) A genomic perspective on the shortcomings of mitochondrial DNA for “barcoding” identification. *J. Hered.*, **97**, 581–594.

- Ruokolainen, L. and Hanski, I. (2016) Stable coexistence of ecologically identical species: conspecific aggregation via reproductive interference. *J. Anim. Ecol.*, **85**, 638–647.
- Saad, Y. M. and El-Sadek, H. ES. A. (2017) The efficiency of cytochrome oxidase subunit 1 gene (cox1) in reconstruction of phylogenetic relations among some Crustacean species. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, **11**, 515-520.
- Santos, S., Hrbek, T., Farias, I. P., Schneider, H. and Sampaio, I. (2006) Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Mol. Ecol.*, **15**, 4361–4373.
- Sattler, T., Bontadina, F., Hirzel, A. H. and Arlettaz, R. (2007) Ecological niche modelling of two cryptic bat species calls for a reassessment of their conservation status: ecological niche modelling of cryptic bat species. *J. Appl. Ecol.*, **44**, 1188–1199.
- Saucier, F. J. and Chassé, J. (2000) Tidal circulation and buoyancy effects in the St. Lawrence Estuary. *Atmos.-Ocean*, **38**, 505–556.
- Schmidt, P. S., Serrão, E. A., Pearson, G. A., Riginos, C., Rawson, P. D., Hilbish, T. J., Brawley, S. H., Trussell, G. C., *et al.* (2008) Ecological genetics in the North Atlantic: environmental gradients and adaptation at specific loci. *Ecology*, **89**, 91–107.
- Schneider, S. and Excoffier, L. (1999) Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics*, **152**, 1079–1089.
- Schubart, C. D., Diesel, R. and Hedges, S. B. (1998) Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs. *Nature*, **393**, 363–365.
- Scriven, J. J., Whitehorn, P. R., Goulson, D. and Tinsley, M. C. (2016) Niche partitioning in a sympatric cryptic species complex. *Ecol. Evol.*, **6**, 1328–1339.
- Sheng, J. (2001) Dynamics of a buoyancy-driven coastal jet: the Gaspé Current. *J. Phys. Oceanogr.*, **31**, 3146–3162.
- Sites, J. W. and Marshall, J. C. (2004) Operational criteria for delimiting species. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **35**, 199–227.

- Simons, R. D., Monismith, S. G., Saucier, F. J., Johnson, L. E. and Winkler, G. (2010) Modelling stratification and baroclinic flow in the estuarine transition zone of the St. Lawrence estuary. *Atmos.-Ocean*, **48**, 132–146.
- Slatkin, M. (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, **236**, 787–792.
- Slatkin, M. (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, **47**, 264–279.
- Smith, S. I. (1873). The crustacea of the fresh waters of the United States. *Am. Nat.*, **7**, 90 pp.
- Smith, G. (2013) “The coexistence of ecologically similar species”. PhD Thesis, University of Texas, Austin, Texas, États-Unis, 84 pp.
- Smith, K. L., Harmon, L. J., Shoo, L. P. and Melville, J. (2011) Evidence of constrained phenotypic evolution in a cryptic species complex of Agamid lizards: phenotypic stability in a cryptic radiation of Australian lizards. *Evolution*, **65**, 976–992.
- Spalding, M. D., Fox, H. E., Allen, G. R., Davidson, N., Ferdaña, Z. A., Finlayson, M., Halpern, B. S., Jorge, M. A., *et al.* (2007) Marine ecoregions of the World: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience*, **57**, 573–583.
- Stanley, R. R. E., dibacco, C., Lowen, B., Beiko, R. G., Jeffery, N. W., Wyngaarden, M. V., Bentzen, P., Brickman, D., *et al.* (2018) A climate-associated multispecies cryptic cline in the northwest Atlantic. *Sci. Adv.*, **4**, eaaq0929.
- Stebbins, G. (1950) Variation and evolution in plants. Geoffrey Cumberlege. London.
- Stemberger, R. S. (1995) Pleistocene refuge areas and postglacial dispersal of copepods of the northeastern United States. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **52**, 2197–2210.
- Struck, T.H. et al. (2017) Two new species in the annelid genus *Stygocapitella* (Orbiniida, Parergodrilidae) with comments on their biogeography. *Zootaxa*, **4286**, 301–332.
- Sunday, J. M., Bates, A. E. and Dulvy, N. K. (2012) Thermal tolerance and the global redistribution of animals. *Nat. Clim. Change*, **2**, 686–690.
- Tattersall, W. M. (1951) A review of the Mysidacea of the United States national museum. *U. S. Nat. Mus., Bull.* **201**. 292 pp.

- Tempestini, A., Rysgaard, S., and Dufresne, F. (2018) Species identification and connectivity of marine amphipods in Canada's three oceans. *Plos One*, **13**, e0197174.
- Templeton, A. R., Crandall, K. A. and Sing, C. F. (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. *Genetics*, **132**, 619–633.
- Teske, P. R., Rius, M., McQuaid, C. D., Styan, C. A., Piggott, M. P., Benhissoune, S., Fuentes-Grünwald, C., Walls, K., *et al.* (2011) “Nested” cryptic diversity in a widespread marine ecosystem engineer: a challenge for detecting biological invasions. *BMC Evol. Biol.*, **11**, 1–13.
- Urrego-Blanco, J. and Sheng, J. (2014) Study on subtidal circulation and variability in the Gulf of St. Lawrence, Scotian Shelf and Gulf of Maine using a nested-grid shelf circulation model. *Ocean Dynamics*, **64**, 385–412.
- Väinölä, R. and Vainio, J. K. (1998) Distributions, life cycles and hybridization of two *Mysis relicta* group species (Crustacea: Mysida) in the northern Baltic Sea and Lake Båven. *Hydrobiologia*, **368**, 137–148.
- Valen, L. V. (1976) Ecological species, multispecies and oaks. *Taxon*, **25**, 2335–239.
- Vézina, A. F., Gratton, Y. and Vinet, P. (1995) Mesoscale physical—biological variability during a summer phytoplankton bloom in the lower St Lawrence Estuary. *Estuarine, Coastal Shelf Sci.*, **41**, 393–411.
- Viñas, M. D., Ramírez, F. C. and Mianzan, H. W. (2005) Annual population dynamics of the opossum shrimp *Neomysis americana* Smith, 1873 (Crustacea: Mysidacea) from an estuarine sector of the Argentine Sea. *Sci. Mar.*, **69**, 493–502.
- Vuilleumier, S., Goudet, J. and Perrin, N. (2010) Evolution in heterogeneous populations: From migration models to fixation probabilities. *Theor. Popul. Biol.*, **78**, 250–258.
- Wares, J. P. (2002) Community genetics in the Northwestern Atlantic intertidal. *Mol. Ecol.*, **11**, 1131–1144.
- Wares, J. P. and Cunningham, C. W. (2001) Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution*, **55**, 2455.
- Wellborn, G. A. and Cothran, R. D. (2007) Niche diversity in crustacean cryptic species: complementarity in spatial distribution and predation risk. *Oecologia*, **154**, 175–183.

- White, D. J., Wolff, J. N., Pierson, M. and Gemmell, N. J. (2008) Revealing the hidden complexities of mtDNA inheritance. *Mol. Ecol.*, **17**, 4925–4942.
- Whiteley, G. C. (1948) The distribution of larger planktonic Crustacea on Georges Bank. *Ecol. Monogr.*, **18**, 233–264.
- Wiens, J. J. and Donoghue, M. J. (2004) Historical biogeography, ecology and species richness. *Trends Ecol. Evol.*, **19**, 639–644.
- Wiens, J.J. (2007). Species delimitation: new approaches for discovering diversity. *Syst. Biol.*, **56**, 875–878.
- Wiens, J. J., Ackerly, D. D., Allen, A. P., Anacker, B. L., Buckley, L. B., Cornell, H. V., Damschen, E. I., Jonathan Davies, T. *et al.* (2010) Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecol. Lett.*, **13**, 1310–1324.
- Wigley, R. L. and Burns, B. R. (1971) Distribution and biology of mysids (Crustacea, Mysidacea) from Atlantic coast of United-States in NMFS woods-hole collection. *Fish. Bull.*, **69**, 717–746.
- Will, K. W. and Rubinoff, D. (2004) Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. *Cladistics*, **20**, 47–55.
- Will, K. W., Mishler, B. D. and Wheeler, Q. D. (2005) The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Syst. Biol.*, **54**, 844–851.
- Williams, A. B. (1972) A ten-year study of meroplankton in North Carolina estuaries: Mysid shrimps. *Chesapeake Sci.*, **13**, 254–262.
- Williams, A. B., Bowman, T. E. and Damkaer, D. M. (1974) Distribution, variation and supplemental description of the opossum shrimp, *Neomysis Americana* (Crustacea: Mysidacea). *Fish. Bull.*, **72**, 835–842.
- Willis, K. J. and Niklas, K. J. (2004) The role of Quaternary environmental change in plant macroevolution: the exception or the rule? *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **359**, 159–172.
- Wilson, A. B. and Veraguth, I. E. (2010) The impact of Pleistocene glaciation across the range of a widespread European coastal species. *Mol. Ecol.*, **19**, 4535–4553.

- Winker, K. (2005) Sibling species were first recognized by William Derham (1718). *The Auk*, **122**, 706–706.
- Winkler, G., Dodson, J. J., Bertrand, N., Thivierge, D. and Vincent, W. F. (2003) Trophic coupling across the St. Lawrence River estuarine transition zone. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **251**, 59–73.
- Winkler, G., Martineau, C., Dodson, J. J., Vincent, W. F. and Johnson, L. E. (2007) Trophic dynamics of two sympatric mysid species in an estuarine transition zone. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **332**, 171–187.
- Winkler, G., Dodson, J. J. and Lee, C. E. (2008) Heterogeneity within the native range: population genetic analyses of sympatric invasive and noninvasive clades of the freshwater invading copepod *Eurytemora affinis*. *Mol. Ecol.*, **17**, 415–430.
- Witt, J. D. S., Threlhoff, D. L. and Hebert, P. D. N. (2006) DNA barcoding reveals extraordinary cryptic diversity in an amphipod genus: implications for desert spring conservation. *Mol. Ecol.*, **15**, 3073–3082.
- Wittmann, K. J. (1984) Ecophysiology of marsupial development and reproduction in Mysidacea (Crustacea). *Oceanogr. Mar. Biol.*, **22**: 393–428.
- Wittmann, K. J. (1999). Global biodiversity in Mysidacea, with notes on the effects of human impact. *Crustaceans and the Biodiversity Crisis*. Leiden Boston, Köln: Brill, 511–525.
- WoRMS Editorial Board (2018). World Register of Marine Species. Available from <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=image&tid=120136&pic=85185>. Accessed 2018-06-20.
- Wright, S. (1931) Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, **16**, 97–159.
- Wright, S. (1932) The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding, and selection in evolution. *Proc. Genet.* **1**, 356–366.
- Xue, H., Xu, Y., Brooks, D., Pettigrew, N. R., and Wallinga, J. (2000) Modeling the circulation in Penobscot Bay, Maine. *Estuarine and coastal modeling: proceedings of the 6th international conference on estuarine and coastal modeling*. American Society of Civil Engineers, Reston, Virginia, 1112–1127.
- Yamada, K., Takahashi, K., Vallet, C., Taguchi, S. and Toda, T. (2007) Distribution, life history and production of three species of *Neomysis* in Akkeshi-ko estuary, northern Japan. *Mar. Biol.*, **150**, 905–917.

- Zhang, D.Y., Lin, K. and Hanski, I. (2004) Coexistence of cryptic species. *Ecol. Lett.*, **7**, 165–169.
- Zickovich, J. M. and Bohonak, A. J. (2007) Dispersal ability and genetic structure in aquatic invertebrates: a comparative study in southern California streams and reservoirs. *Freshwater Biol.*, **52**, 1982–1996.
- Zúñiga-Reinoso, Á. and Benítez, H. A. (2015) The overrated use of the morphological cryptic species concept: an example with *Nyctelia* darkbeetles (Coleoptera: Tenebrionidae) using geometric morphometrics. *J. Comp. Zool.*, **255**, 47–53.

